

NARUMI PEREIRA LIMA

**ESTAQUIA SEMILENHOSA E COMPARAÇÃO DE METABÓLITOS  
SECUNDÁRIOS EM *Mikania glomerata* Sprengel E  
*Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-  
Graduação em Agronomia, Área de concentração  
- Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi

CURITIBA

2001



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
PRODUÇÃO VEGETAL

## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata **NARUMI PEREIRA LIMA**, sob o título “**Estaquia Semilenhosa e Comparação de Metabólitos Secundários em *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Shultz Bip ex Baker**”, para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação.

Curitiba, 23 de Março de 2001.

Professora Dra. Ingrid Bergman Inchausti de Barros  
Primeira Examinadora

Professora Dra. Kátia Christina Zuffellato Ribas  
Segunda Examinadora

Professor Dr. Luiz Antonio Biasi  
Presidente da Banca e Orientador

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Luiz Antonio Biasi, pela inestimável orientação, e também pelo apoio, auxílio, compreensão, amizade e paciência inigualáveis, sem as quais o presente trabalho não seria possível.

À Professora Dra. Tomoe Nakashima, pela co-orientação e precioso auxílio nas análises fitoquímicas.

Ao Professor Dr. Henrique Soares Kohler, pela orientação estatística na análise dos resultados.

Aos Professores Drs. Olavo de Araújo Guimarães, Mara Ritter e Marta Dias de Moraes, pela classificação botânica das espécies estudadas.

Aos demais professores da Pós-Graduação do Depto. de Fitotecnia e Fitossanidade do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, pelos conhecimentos e vivências transmitidos, em especial aos professores Dr. Adauto Belarmino de Pereira Netto e Dra. Kátia Zuffelatto Ribas, e ao Professor Dr. Rui Inácio Neiva de Carvalho, pela amizade, incentivo e pelas valiosas sugestões prestadas ao presente trabalho.

Aos funcionários e estagiários do Depto. de Fitotecnia e Fitossanidade e do Laboratório de Micropropagação Vegetal, em especial à Lucimara, Maristela, Humberto e Gilson, pelo auxílio na consecução deste trabalho.

À farmacêutica Maria da Graça Toledo, técnica do Laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia da UFPR, pelo auxílio nas análises fitoquímicas, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação, especialmente a Marlene Ferronato, Larissa Winkler e Sandra Medeiro, pela amizade e apoio.

À minha mãe, Luiza Pereira Lima, por tudo que me tem dado.

Ao meu pai, Professor Dr. Gerson Pereira Lima, além de tudo, pelos conselhos e apoio profissional.

Ao Antonio Carlos, pelo amor e dedicação incondicionais.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE ANEXOS .....	xii
RESUMO .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS .....	4
2.1.1 Sistemática .....	4
2.1.2 Descrição morfológica .....	5
2.1.2.1 <i>Mikania glomerata</i> Sprengel .....	5
2.1.2.2 <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. ex Baker .....	7
2.2 ASPECTOS FITOQUÍMICOS .....	8
2.3 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS .....	9
2.4 ASPECTOS AGRONÔMICOS .....	11
2.5 ESTAQUIA .....	13
2.5.1 Princípios anatômicos do enraizamento .....	14
2.5.2 Princípios fisiológicos do enraizamento .....	15
2.5.3 Fatores que afetam o enraizamento .....	17
2.5.3.1 Fatores internos .....	17
2.5.3.2 Fatores externos .....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	23
3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....	23
3.2 ESCOLHA DAS PLANTAS MATRIZES (CONTROLES) .....	23
3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES .....	24
3.4 EXPERIMENTOS DE ESTAQUIA .....	27
3.4.1 Efeito da área foliar na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	27

3.4.2 Efeito de diferentes substratos, em dois sistemas de irrigação, na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	28
3.4.3 Efeito do tempo de imersão em água na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	29
3.5 COMPARAÇÃO A CAMPO DO RENDIMENTO AGRONÔMICO DAS PLANTAS OBTIDAS POR ESTAQUIA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> .....	30
3.6 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO FITOQUÍMICA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> .....	31
3.6.1 Extrato hidroalcoólico .....	31
3.6.1.1 Extrato seco .....	32
3.6.1.2 Alcalóides .....	32
3.6.1.3 Cumarinas .....	33
3.6.1.4 Glicosídeos flavônicos .....	33
3.6.1.5 Glicosídeos antraquinônicos .....	34
3.6.1.6 Esteróides e/ou triterpenóides .....	34
3.6.1.7 Aminogrupos .....	34
3.6.1.8 Leucoantocianidinas .....	35
3.6.2 Extrato aquoso .....	35
3.6.2.1 Extrato seco .....	35
3.6.2.2 Taninos condensados e hidrolisados .....	36
3.6.2.3 Glicosídeos cianogenéticos .....	37
3.6.2.4 Glicosídeos antociânicos .....	37
3.6.2.5 Glicosídeos saponínicos .....	38
3.6.2.6 Ácidos fixos .....	38
3.6.2.7 Ácidos voláteis .....	39
3.6.2.8 Aminogrupos .....	39
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
4.1 EXPERIMENTOS DE ESTAQUIA .....	40
4.1.1 Efeito da área foliar na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	40
4.1.2 Efeito de diferentes substratos, em dois sistemas de irrigação, na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	49

4.1.3 Efeito do tempo de imersão em água na propagação de <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> .....	56
4.2 COMPARAÇÃO A CAMPO DO RENDIMENTO AGRONÔMICO DAS PLANTAS OBTIDAS POR ESTAQUIA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania</i> <i>laevigata</i> .....	60
4.3 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO FITOQUÍMICA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> .....	63
4.3.1 <i>Mikania glomerata</i> .....	63
4.3.2 <i>Mikania laevigata</i> .....	65
4.3.3 Comparação fitoquímica .....	66
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69
<b>ANEXOS</b> .....	78

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	RESULTADO DA ANÁLISE FÍSICA DOS SUBSTRATOS .....29
TABELA 2.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO ENRAIZAMENTO, BROTAÇÃO E MORTALIDADE DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 4) ..... 42
TABELA 3.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO E BROTAÇÃO DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 5) ..... 52
TABELA 4.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MORTALIDADE (%) E RETENÇÃO FOLIAR (%) DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 6) ..... 52
TABELA 5.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXOS 7 E 8) .....53
TABELA 6.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 5) .....53



TABELA 7.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA BROTAÇÃO, MORTALIDADE E RETENÇÃO FOLIAR DE ESTACAS DE <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXOS 5 E 6) .....54
TABELA 8.	EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXOS 7 E 8) .....55
TABELA 9.	EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NA RETENÇÃO FOLIAR, ENRAIZAMENTO, BROTAÇÃO E MORTALIDADE DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, ANEXOS 9 E 10) .....56
TABELA 10.	EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, ANEXOS 11 E 12) .....57

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	ASPECTO MORFOLÓGICO DE <i>Mikania glomerata</i> : A – RAMO; B – FLOR; C – CAPÍTULO; D – FOLHA; E – COROLA; F – BRÁCTEA INVOLUCRAL; G – BRACTÉOLA (RITTER; BAPTISTA; MATZENBACHER, 1992) ..... 25
FIGURA 2.	ASPECTO MORFOLÓGICO DE <i>Mikania laevigata</i> : A – RAMO; B – FOLHA; C – CAPÍTULO; D – FLOR; E – COROLA; F – BRÁCTEA INVOLUCRAL; G – BRACTÉOLA (RITTER BAPTISTA; MATZENBACHER, 1992) .....26
FIGURA 3.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> ..... 44
FIGURA 4.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO VOLUME DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE <i>Mikania glomerata</i> e <i>Mikania laevigata</i> ..... 45
FIGURA 5.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA FRESCA DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> ..... 46
FIGURA 6.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA SECA DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> ..... 47
FIGURA 7.	ASPECTO DO ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> (A) E <i>Mikania laevigata</i> (B), EM DIFERENTES ÁREAS FOLIARES .....48

FIGURA 8.	ASPECTO DO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> (A) E <i>Mikania laevigata</i> (B), 90 DIAS APÓS A IMERSÃO DAS ESTACAS EM ÁGUA .....	59
FIGURA 9.	ASPECTO DAS PLANTAS DE <i>Mikania glomerata</i> (ESQUERDA) E <i>Mikania laevigata</i> (DIREITA) APÓS A GEADA, NO INVERNO DE 1999 .....	61

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1.	EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES/ESTACA, VOLUME DE RAÍZES, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXOS 2 E 3) .....79
ANEXO 2.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES/ESTACA E VOLUME DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 1) ..... 79
ANEXO 3.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 1) .....80
ANEXO 4.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA PORCENTAGEM DE ESTACAS ENRAIZADAS, BROTADAS E MORTAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.1, TABELA 1) ..... 80
ANEXO 5.	RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO E BROTAÇÃO DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 3, 6 E 7) ..... 81
ANEXO 6.	RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MORTALIDADE E RETENÇÃO FOLIAR DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 4 E 7) ..... 82

ANEXO 7.	RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES E VOLUME DE RAÍZES DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 5 E 8) ..... 83
ANEXO 8.	RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE ESTACAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 5 E 8) .....84
ANEXO 9.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO NA RETENÇÃO FOLIAR E PORCENTAGEM DE ESTACAS ENRAIZADAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 9). .....85
ANEXO 10.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO NA PORCENTAGEM DE ESTACAS BROTADAS E MORTAS DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 15) .....85
ANEXO 11.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NO COMPRIMENTO DA BROTAÇÃO E VOLUME DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 10) .....86
ANEXO 12.	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE <i>Mikania glomerata</i> E <i>Mikania laevigata</i> (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 10) .....86

ANEXO 13.	DADOS DIÁRIOS DE TEMPERATURA – 1999 (FONTE: SIMEPAR – SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ, ESTAÇÃO 25254905, PINHAIS) .....87
ANEXO 14.	DADOS DIÁRIOS DE TEMPERATURA – 2000 (FONTE: SIMEPAR – SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ, ESTAÇÃO 25254905, PINHAIS) .....88

## RESUMO

Visando a obtenção de subsídios técnicos à produção em escala comercial do guaco, o objetivo geral do presente estudo foi otimizar o processo de propagação via estaquia do guaco, e os objetivos específicos foram analisar fitoquimicamente a possibilidade do uso de *Mikania laevigata* como sucedânea de *Mikania glomerata*, determinar a área foliar, o tempo de imersão em água, o substrato e o sistema de irrigação mais indicados na estaquia de guaco e comparar agronomicamente o rendimento a campo das duas espécies. Foram realizados três experimentos de estaquia, para verificar o efeito da área foliar, do tempo de imersão da base da estaca em água e da interação substrato x sistema de irrigação na estaquia das duas espécies de guaco. No primeiro experimento, foram testadas as seguintes áreas foliares: 0, 5, 25, 50 e 100 cm<sup>2</sup>. No segundo experimento, testou-se os substratos casca de arroz carbonizada, areia e solo, cada qual sob dois diferentes sistemas de irrigação (nebulização ou rega manual). No terceiro experimento, testou-se 0, 3, 6, 12 e 24 horas de imersão em água. Para todos os experimentos, utilizou-se estacas com 12cm de comprimento, diâmetro de 0,8 a 1,0 cm, retiradas da parte mediana dos ramos; o delineamento foi em blocos ao acaso, com quatro repetições e vinte estacas por parcela. A avaliação foi feita, respectivamente, 75, 60 e 90 dias após a instalação dos experimentos. O aumento da área foliar causou aumento no enraizamento e decréscimo na mortalidade das duas espécies, cabendo ressaltar que *M. glomerata* apresentou menor desenvolvimento que *M. laevigata*. Quanto à interação substrato x sistema de irrigação, constatou-se que, de modo geral, tanto para *M. glomerata* quanto para *M. laevigata*, o substrato casca de arroz carbonizada sob rega manual apresentou os melhores resultados. O tempo de imersão da base da estaca em água não afetou significativamente, para ambas as espécies, nenhuma das variáveis. No estudo visando comparar o rendimento a campo das duas espécies, foram plantadas mudas na Fazenda Experimental do Canguiri da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em 25/11/98, em covas espaçadas de 1,0 m na linha e de 2,0 m na entrelinha, com condução em espaldeira com fios a 0,8, 1,2 e 1,6 m de altura. O delineamento foi em blocos casualizados, com três repetições e três plantas por parcela. A ocorrência de uma forte geada no inverno de 1999 causou a morte das plantas de *M. glomerata*. O rendimento de *M. laevigata*, avaliado 17 meses após o plantio, resultou em 501,5 g de matéria seca/planta. Também foi realizada a avaliação e comparação fitoquímica dos metabólitos secundários das duas espécies, no Laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia da UFPR, utilizando os extratos hidroalcoólico e aquoso obtidos a partir de folhas e ramos estabilizados e triturados de plantas coletadas na Fazenda Experimental do Canguiri da UFPR. Foram testados no extrato hidroalcoólico: características organolépticas, % extrato seco, alcalóides, cumarinas, flavonóides, antraquinonas, esteróides/triterpenóides, aminogrupos e leucoantocianidinas; no extrato aquoso: características organolépticas, % extrato seco, taninos, glicosídeos cianogenéticos, saponinas, antocianidinas, ácidos fixos e voláteis e aminogrupos. *M. glomerata* apresentou resultados positivos para: cumarinas, esteróides/triterpenóides, saponinas e ácidos voláteis; cor verde escura, odor aromático adocicado, sabor amargo, pH 6,5 e resíduo seco de 14,85% para o extrato hidroalcoólico e cor marrom escuro, odor herbáceo adocicado, sabor amargo e pH 5,0 e resíduo seco de 8,93% para o extrato aquoso. *M. laevigata* apresentou resultados positivos para: cumarinas, esteróides/triterpenóides, aminogrupos, taninos e saponinas; cor verde escura, odor aromático adocicado, sabor amargo, pH 6,0 e resíduo seco de 6,94% para o extrato hidroalcoólico e cor marrom escura, odor herbáceo adocicado, sabor amargo, pH 5,5 e resíduo seco de 11,61% para o extrato aquoso. Para ambas as espécies, os resultados, de modo geral, coincidem com os encontrados na literatura. Com base nestes estudos, conclui-se que: é possível a utilização de *M. laevigata* como sucedânea de *M. glomerata*; na propagação via estaquia de guaco, recomenda-se área foliar de 100 cm<sup>2</sup> e uso da casca de arroz carbonizada, sob rega manual, como substrato; não houve influência do tempo de imersão da base da estaca em água; *M. glomerata* apresentou menor tolerância ao frio que *M. laevigata*, sendo que esta apresentou produção de 501,5 g de matéria seca/planta.

Palavras-chave: guaco, propagação vegetativa, planta medicinal

## ABSTRACT

Seeking to obtain technical subsidies to the production in commercial scale of the "guaco", the general objective of the present study was optimizing the propagation process through cuttings of the "guaco", and the specific objectives were to analyze phytochemically the possible use of the *Mikania laevigata* as succedaneous of *Mikania glomerata*, to determinate the leaf area, the time of immersion in water, the substratum and the irrigation system more indicated in the cuttings of "guaco" and to compare the yielding of the two species in the field. Three cuttings experiments were accomplished, to verify the effect of the leaf area, the time of immersion of the base of the cuttings in water and of the interaction substratum x irrigation system in the cutting of the two "guaco" species. In the first experiment, the following leaves area were tested: 0, 5, 25, 50 and 100 cm<sup>2</sup>. In the second experiment was tested the following substratum: carbonized rice seed coat, sands and soil, each one under two different irrigation systems (nebulization or manual irrigation). In the third experiment, it was tested 0, 3, 6, 12 and 24 hours of immersion in water. For all the experiments, it was used cuttings with 12 cm of length, diameter of 0,8 to 1,0 cm, taking from the medium part of the branches; the experimental design is a randomized complete block, with four replication and twenty cutting each plot. The evaluation was made, respectively, 75, 60 and 90 days after the installation of the experiments. The increase of the leaf area caused increase in the root system and a decrease in the mortality of the two species, fitting to stand out that *M. glomerata* presented smaller development of the radical system than *M. laevigata*. With relationship to the interaction substratum x irrigation system, was verified that, in general, as for *M. glomerata* as for *M. laevigata*, the substratum carbonizes rice seed coat under manual irrigation presented the best results. The time of immersion of the base of the cuttings in water didn't affect significantly, for both species, none of the variables. In the study seeking to compare the yielding of the two species, plantlets were planted in the Fazenda Experimental do Canguiri of the Universidade Federal do Paraná (UFPR), in 11/25/1998, in space holes of 1,0 m in the line and 2,0 m between lines, with conduction in spallier with threads to 0,8, 1,2 and 1,6 m of height. The experimental design was a randomized complete blocks, with three replication and three plants each plot. The occurrence of a strong frost in the winter of 1999 caused the death of the plants of *M. glomerata*. The yielding of *M. laevigata*, evaluated 17 months after the plantation, resulted in 501.5 g of dry matter/plant. Also was accomplished the phytochemical evaluation and comparison of the secondary metabolites of the two species, in the Laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia of the UFPR, using the hidroalcoholic and aqueous extracts obtained from stabilizes and triturated leaves and branches from plants collected in the Fazenda Experimental do Canguiri of the UFPR. They were tested in hidroalcoholic extract: sensorial characteristics, % dry extract, alkaloids, coumarins, flavonoids, antraquinons, steroids/triterpenoids, aminogroups and luecoantocyanindins; in aqueous extract: sensorial characteristic, % dry extract, tannins, cyanogenic glycosids, saponins, anthocinains, fixed and volatile acids and aminogroups. *M. glomerata* presented positive results for: coumarins, steroids/triterpenoids, saponins and volatile acids; dark green color, sweetened aromatic scent, bitter flavour, pH 6,5 and dry residue of 14,85% for the hidroalcoholic extract and dark brown color, sweetened herbaceous scent, bitter flavour, pH 5,0 and dry residue of 8,93% for the aqueous extract. *M. laevigata* presented positive results for: coumarins, steroids/triterpenoids, aminogroups, tannins and saponins; dark green color, sweetened aromatic scent, bitter flavour, pH 6,0 and dry residue of 6,94% for the hidroalcoholic extract and dark brown color, sweetened herbaceous scent, bitter flavour, pH 5,5 and dry residue of 11,61% for the aqueous extract. For both species the results, in general, coincide with that in the literature. Based in the studies, it was concluded that: it is possible the use of *M. laevigata* as succedaneous of *M. glomerata*; in the propagation through "guaco" cuttings, is recommended the leaf area of 100 cm<sup>2</sup> and the use of the carbonized rice seed coat, under manual irrigation, as substratum; there was no influence of the time of immersion of the base of the cutting in water; *M. glomerata* presented smaller tolerance to the cold than *M. laevigata*, which presented the production of 501,5 g of dry matter/plant.

Key-words: "guaco", vegetative propagation, medicinal plant.



# 1 INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais como fonte de remédios para o tratamento e cura de doenças remonta ao início da civilização, chegou até os dias atuais, ultrapassando todas as barreiras e dificuldades, como um recurso terapêutico eficaz. Apesar disso, durante muitos anos, a pesquisa com plantas medicinais foi subestimada pelo meio científico. Essa situação foi se modificando à medida em que os resultados das pesquisas com plantas medicinais se mostravam promissores, de modo que, nas últimas décadas, um grande número de estudantes e pesquisadores passaram a se interessar pelo assunto (DI STASI, 1996).

Apesar da necessidade de grandes quantidades de matéria-prima, a produção nacional não atende a demanda, principalmente em relação às espécies nativas, obtidas quase que na sua totalidade pela exploração extrativista das matas. Em consequência disso, o estudo agrônomo destas plantas se faz necessário, pois fornece subsídios para o cultivo em escala comercial das mesmas, permitindo que as drogas sejam obtidas com melhor qualidade, com uniformidade fitoquímica e agrônoma, nas quantidades requeridas pela indústria e, sobretudo, sem causar danos irreparáveis ao ecossistema, como a destruição das florestas e até mesmo a extinção de algumas espécies.

O guaco, que por esta sinonímia abrange praticamente todas as espécies do gênero *Mikania* Willd., tem uso medicinal antigo. Provavelmente, os primeiros

colonizadores aprenderam o seu emprego com os nativos. Daí, levaram o costume para suas terras de origem (OLIVEIRA *et al.*, 1985a).

Várias plantas são utilizadas na falsificação da droga guaco, originalmente composta somente por *Mikania glomerata*. A empregada com mais frequência é *Mikania laevigata*, que apresenta grande semelhança química e morfológica com a droga original, sendo inclusive recomendada como sua sucedânea (OLIVEIRA *et al.*, 1984).

Na primeira edição da Farmacopéia Brasileira, foram incluídas duas espécies do gênero *Mikania*: *Mikania glomerata*, também conhecida como guaco, guaco-liso, guaco-cheiroso ou erva-de-cobra e *Mikania hirsutissima* DC ou cipó-cabeludo (SILVA, 1929).

A *Mikania glomerata* possui um odor aromático e agradável lembrando a baunilha. Como esse odor é transmitido às formas farmacêuticas, a planta é também utilizada como corretivo de sabor e odor e no preparo de licores e doces (OLIVEIRA *et al.*, 1984).

No Brasil, a Central de Medicamentos (CEME) desenvolveu um programa de pesquisa de plantas medicinais onde reconheceu a eficácia de certas espécies, que já são distribuídas à população nos postos de saúde (NEVES; SÁ, 1991). É o caso da *Mikania glomerata* Sprengel, popularmente chamada guaco, cujo xarope, usado comumente como broncodilatador, antitussígeno e expectorante, produzido e distribuído pela Secretaria de Saúde do município de Curitiba, pelo Sistema Único de Saúde, o SUS (MIGUEL; MIGUEL; GOMES, 1992). Atualmente, a Farmácia Escola da Universidade Federal do Paraná produz o xarope de guaco para distribuição, pela Secretaria de Saúde do município de Curitiba, à população carente.

Em face do exposto, na busca de subsídios técnicos à produção em escala comercial do guaco, o objetivo geral deste estudo foi otimizar o processo de propagação via estaquia do guaco, visando a obtenção de mudas mais rapidamente e com menor custo.

Os objetivos específicos foram analisar fitoquimicamente, pelos metabólitos secundários presentes, a possibilidade do uso de *Mikania laevigata* como sucedâneo de *Mikania glomerata*; determinar a área foliar, tempo de imersão em água, substrato e sistema de irrigação mais indicados para a propagação via estaquia de guaco e comparar agronomicamente o rendimento a campo das duas espécies.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS

#### 2.1.1 Sistemática

O gênero *Mikania* Willdenow pertence à tribo Eupatorieae, da família Asteraceae, uma das maiores e mais evoluídas do reino vegetal. Foi descrito por Willdenow em 1803 e, segundo ROBINSON e GREENMAN (1896)<sup>1</sup> citados por RITTER; BAPTISTA e MATZENBACHER (1992), recebeu esse nome em homenagem ao professor Joseph Gottfried Mikan, de Praga.

Este gênero tem, de acordo com RITTER; BAPTISTA e MATZENBACHER (1992), cerca de 415 espécies distribuídas principalmente nas Américas do Sul e Central, sendo 171 destas no Brasil. Já para BARROSO (1958), o número de espécies é de 280 a 300 nas Américas e 152 no Brasil. Para o estado do Paraná foram descritas 69 espécies (ANGELY, 1965).

No Brasil, o gênero ocorre de norte a sul do País, tendo sua principal área de dispersão nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (BARROSO, 1958; OLIVEIRA, 1983).

---

<sup>1</sup> ROBINSON, B. L.; GREENMAN, J. M. Synopsis of the Mexican and Central America species of the genus *Mikania*. *Proceedings American Academy of Arts and Sciences*, Boston, 32: 10-13, 1896.

Dentre as espécies medicinais pertencentes ao gênero *Mikania* Willd., as principais se encontram agrupadas na secção *Globosae* Robinson. Algumas das espécies brasileiras desta secção são *Mikania hatschbachii* G. M. Barroso, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker (BARROSO, 1958).

### 2.1.2 Descrição morfológica

#### 2.1.2.1 *Mikania glomerata* Sprengel (segundo OLIVEIRA, 1983 e RITTER; BAPTISTA e MATZENBACHER, 1992)

É um subarbusto trepador volúvel, provido de caule bastante ramificado, cilíndrico, lenhoso, de superfície glabra, apresentando coloração verde clara nas partes jovens, as quais aos poucos vão adquirindo coloração arroxeada, passando finalmente a cinzento escuro nas partes suberificadas. Após a secagem apresentam fratura fibrosa e irregular adquirindo externamente aspecto estriado longitudinalmente.

As folhas são pecioladas, glabras em ambas as faces, de disposição oposta, ovais a lanceoladas-hastadas, trilobadas, de ápice acuminado e base arredondada ou subcordiforme. Possuem consistência variando de membranácea a coriácea. São tri a quinquínervas na base, sendo a margem dos lobos aproximadamente lisa.

O limbo mede de 8,0 a 15,0 cm de comprimento por 6,0 a 9,0 cm de largura. O pecíolo, glabro, mede de 3,0 a 7,0 cm de comprimento por até 0,5 cm de diâmetro na base. Possui forma quase cilíndrica, é ligeiramente canaletado e apresenta, com frequência, a base torcida.

Os capítulos são numerosos e sésseis, e estão dispostos em panículas de glomérulos. As bractéolas são uninérveas, lineares a ovais, pilosas; localizadas junto às brácteas involucrais e medem de 1,0 a 2,0 mm de comprimento por 0,7 mm de largura.

O invólucro é constituído de quatro brácteas liguladas, de ápice ciliado, agudo e oblongo, base saliente e endurecida, condescidas entre si; cada bráctea mede de 2,8 a 4,5 mm de comprimento por 0,9 a 1,1 mm de largura.

A corola é infundibuliforme provida de tubo medindo 1,0 a 2,0 mm de comprimento e limbo medindo 3,0 a 5,0 mm de comprimento, provido de 5 lacínias triangulares de aproximadamente 0,5 a 1,0 mm de comprimento. O papus, barbelado, mede geralmente de 4,0 a 6,0 mm de comprimento, e tem coloração variando do branco ao rosado. O aquênio é pentangular, levemente piloso ou glabro, medindo 2,0 a 4,0 mm de comprimento.

O nome vulgar da espécie é guaco liso, guaco de cheiro, cipó caatinga, huaco. A área de dispersão compreende o Brasil, Paraguai e noroeste da Argentina (BARROSO, 1958), sendo seu habitat as margens e o interior de matas. A fenologia indica florescimento de agosto a dezembro. Seu número cromossômico é  $2n=36$ .

*Mikania glomerata* Sprengel pode apresentar variações na forma das folhas, principalmente nas que estão localizadas próximas às inflorescências. Muitas vezes as folhas, que são geralmente hastadas, apresentam-se oval-lanceoladas, ficando então muito parecidas com as folhas de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker.

2.1.2.2 *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker (segundo OLIVEIRA, 1983 e RITTER; BAPTISTA e MATZENBACHER, 1992)

É um subarbusto trepador volúvel, provido de caule cilíndrico, lenhoso, estriado longitudinalmente quando seco, com coloração castanho-acinzentada nas partes mais velhas, passando a verde nas pontas.

As folhas possuem disposição oposta, margem inteira, contorno oval-lanceolado, ápice acuminado e base atenuada, obtusa, arredondada ou subcordiforme. Possui consistência coriácea, são glabras e quinquenérveas. As folhas são pecioladas e medem, quando adultas, de 6,5 a 15,0 cm de comprimento por 3,0 a 5,5 cm de largura. As nervuras são salientes na face dorsal.

Os capítulos, numerosos e sésseis, encontram-se dispostos em ramos espiciformes congestos ou em glomérulos densos. As flores são hermafroditas, infundibuliformes, providas de limbo dividido em cinco lacínias triangulares curtas e de um tubo relativamente curto.

A bractéola é estreitamente oval, de ápice acuminado, com 1,0 a 2,0 mm de comprimento por 0,5 mm de largura, glabra ou pouco pilosa, localizada junto às brácteas involucrais. As brácteas involucrais são estreitamente oblongas, de ápice obtuso, com 3,5 a 5,0 mm de comprimento por 1,2 mm de largura, condescidas na base e ciliadas no ápice. A corola possui tubo de 1,0 a 1,5 mm de comprimento, limbo de 2,8 a 4,0 mm de comprimento dividido em lóbulos de 0,5 a 1,2 mm de comprimento.

O aquênio é glabro, medindo de 2,5 a 4,0 mm, com papus barbelado, de coloração amarela, com 4,0 a 6,0 mm de comprimento.

O nome vulgar da espécie é guaco. A área de dispersão é o Brasil, do Rio Grande do Sul até São Paulo, sendo o habitat as margens e o interior de matas. A fenologia indica florescimento de agosto a novembro. O número cromossômico da espécie é  $2n=38$ .

Esta é uma espécie próxima de *Mikania glomerata*, sendo muitas vezes confundida com ela. *Mikania laevigata* também apresenta variações nas formas das folhas, mas elas nunca se apresentam hastadas como em *Mikania glomerata*. O odor característico da cumarina permanece presente no material herborizado.

## 2.2 ASPECTOS FITOQUÍMICOS

A espécie do gênero *Mikania* mais utilizada para fins medicinais é *Mikania glomerata*. Esta espécie, assim como *Mikania hirsutissima* DC, foi oficializada como fitofármaco na primeira edição da Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil (SILVA, 1929).

A *Mikania glomerata* é a espécie mais estudada e sobre a qual existem muitos dados acerca da composição química e do seu princípio ativo. São componentes do extrato hexânico desta planta a cumarina, o estigmasterol e um éster alifático insaturado (OLIVEIRA *et al.*, 1984). LUCAS (1942), já havia detectado a presença de um glicósido cumarina no vegetal. As substâncias resinosas detectadas por este autor podem estar relacionadas com a ação expectorante do vegetal.

No extrato hexânico de *Mikania laevigata*, encontrou-se o ácido caurenóico, o ácido cinamoilgrandiflorico e cumarina. Nas partes aéreas de *Mikania laevigata* e



*Mikania glomerata* foram encontrados alcalóides, saponinas, óleo essencial, taninos, compostos fenólicos e esteróides, mas não foram constatados antraderivados, glicósidos cardioativos ou flavonóides (OLIVEIRA *et al.*, 1985b). No entanto, a presença de alcalóides na planta pode ser posta em dúvida pois, segundo LUCAS (1942), a presença de cumarinas pode levar a resultados falsamente positivos para alcalóides.

SANTOS; TOMASSINI e CABRAL (1998) isolaram e identificaram o lupeol, a cumarina e dois diterpenos da série caurenos, o ácido caurenóico e o ácido isobutiriloxi-caurenóico.

## 2.3 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS

Os guacos, como são genericamente conhecidas as espécies do gênero *Mikania* Willd. caracterizam-se, segundo a tradição popular, como antídoto do veneno de certos ofídios e escorpiões. São ainda usados como tônicos aromáticos, no tratamento de artrites, nevralgias e doenças respiratórias em geral (NEVES; SÁ, 1991).

Estudos químicos realizados em várias espécies do gênero *Mikania* Willd., detectaram a presença de lactonas sesquiterpênicas possuidoras do esqueleto germacreno e com atividade anti-tumoral. Os sesquiterpenos mikanólido, dihidromikanólido e o ácido caurenóico, substâncias presentes em diversas espécies do gênero *Mikania* Willd., demonstraram atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (OLIVEIRA, 1983).

A espécie mais utilizada para fins medicinais, *Mikania glomerata*, possui atividades farmacológicas bem definidas pela literatura. LUCAS (1942), relatou o uso da planta como anti-reumática e anti-inflamatória, além de ser empregada também como anti-espasmódica, expectorante e balsâmico das vias respiratórias. Externamente, é usada na forma de tintura, alcoolutura e como sabão medicinal. Nestas formas farmacêuticas, são empregadas contra nevralgias, reumatismos, eczemas pruriginosos e como antiséptico.

O sabão medicinal de *Mikania glomerata* e de *Mikania laevigata* é ainda utilizado no tratamento de queimaduras, tumores, picadas de insetos, frieiras, nas dores de ouvido e de dentes (OLIVEIRA *et al.*, 1984, 1985b).

A ação terapêutica externa pode ser explicada pela formação de uma película ou filme protetor sobre o tegumento cutâneo. Internamente, o uso de forma farmacêutica feita a partir da *Mikania glomerata* facilita a fluidificação dos exsudatos traqueobrônquicos ou estimula sua secreção, de modo que possam mais facilmente serem expulsos através da tosse. Atua relaxando a musculatura lisa das vias aéreas, principalmente dos brônquios. Ainda estimula a secreção da urina, sendo útil em casos febris, onde exerce grande efeito sudorífico (TESKE; TRENTINI, 1995).

Por seu efeito broncodilatador, *Mikania glomerata* é utilizada no tratamento de crise asmática (LEITE *et al.*, 1992). LIMA e FERRO (1997), descrevem ainda para a espécie, atividade hipotensiva, citotóxica e antineoplásica. O efeito benéfico das duas plantas, *M. glomerata* e *M. laevigata*, parece ser devido a uma interação das atividades anti-inflamatória e antibiótica. Como responsáveis pela atividade antibiótica do extrato destas plantas são apontados o ácido caurenóico e o ácido cinamoilgrandiflórico (OLIVEIRA *et al.*, 1984, 1985b).

## 2.4 ASPECTOS AGRONÔMICOS

Há poucos estudos sobre a propagação e cultivo das espécies do gênero *Mikania* Willd. Foram encontrados apenas alguns registros, e somente sobre *Mikania glomerata*.

*M. glomerata* apresenta grande facilidade em desenvolver raízes adventícias, bastando para isso, o contato da região dos nós com terra úmida (OLIVEIRA *et al.*, 1985a).

Segundo DESCHAMPS *et al.* (1996), a propagação via estaquia de *M. glomerata* é de interesse devido à facilidade e rapidez do método e também pelo fato da planta apresentar florescimento irregular, ou de simplesmente não florescer em algumas regiões do país, o que torna a propagação via semente bastante difícil, senão impossível. No experimento realizado pelos autores, utilizando estacas de guaco com 15 cm de comprimento e duas folhas pela metade, as que apresentaram melhores resultados de enraizamento foram aquelas retiradas das porções mediana e basal da planta. A imersão em auxinas (ácido indolpropiónico e ácido indolbutírico) ou em água destilada, não aumentou o enraizamento.

Já LIMA (1989)<sup>2</sup> citado por ANTONÁCIO (1996), em experimento semelhante, verificou que o melhor resultado se deu com estacas de 15 cm de comprimento e com folhas inteiras.

Para SILVA JUNIOR (1999?), as estacas devem ter cinco gemas e um par de folhas. As folhas remanescentes devem ser cortadas transversalmente com tesoura, e as estacas herbáceas devem ser hidratadas previamente por uma hora. Ainda, de

---

<sup>2</sup> LIMA, H. J. M. Enraizamento de estacas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) em solução aquosa. UFCE, 1989.

acordo com o mesmo autor, o substrato deve ser à base de húmus de minhoca e vermiculita. As fases de aclimação e brotação devem ser realizadas em ambiente com 70% de sombreamento, e as mudas devem ser transplantadas com cerca de 30 cm de altura, tutoradas em espaldeira.

O tempo de enraizamento das estacas durante o processo de formação de mudas é bastante desuniforme, variando de 15 a 45 dias, conforme estudo realizado por FIGUEIRA *et al.* (1991). O Centro Pluridisciplinar em Pesquisas Químicas, Biológicas e Agronômicas (CPQBA) da UNICAMP, também realizou testes de enraizamento de estacas de guaco, registrando uma sobrevivência de 70% com o uso de Benlate<sup>®</sup> a 5% (UNICAMP/CPQBA - CEME, 1990). Para a assepsia das estacas também pode-se utilizar imersão por alguns minutos numa solução de água sanitária a 5% (MONTANARI, 1999).

MAGALHÃES (1997), recomenda para a estaquia do guaco a utilização de ramos com 15 a 20 cm, tratados com fungicidas, e redução da área foliar da estaca para um par de folhas cortadas ao meio. Segundo o mesmo autor, o guaco pode ser cultivado à sombra ou a pleno sol, sendo que quando cultivado à sombra, apresenta crescimento mais rápido, não ocorrendo florescimento, com teor de cumarina nas folhas maior.

O plantio do guaco deve ser realizado em covas adubadas com esterco de curral e a distância entre plantas deve ser de 2 m. A distância entre as linhas deve ser adequada ao maquinário do agricultor, mas nunca menor do que 2 m para evitar o enrolamento das plantas (MONTANARI, 1999). Para seu cultivo é necessário o tutoramento da planta em espaldeiras, realizando amarrações periódicas dos ramos nos arames (MAGALHÃES, 1997). Para esta prática cultural, o agricultor deve enrolar os ramos no sentido anti-horário, já que o guaco é uma planta levógira. A

colheita pode ser realizada após 16 meses do plantio, sendo possível colher entre duas e quatro vezes por ano, sempre deixando pelo menos 30% dos ramos com folhas na planta para permitir a sua recuperação vegetativa. A produtividade é de aproximadamente 8kg de matéria fresca por planta, ocorrendo uma quebra de 75% após a secagem (MONTANARI, 1999).

PEREIRA; ZANON e SCHEFFER (1995), estudando a propagação sexuada de *M. glomerata*, observaram a germinação de sementes de guaco em diferentes substratos e a diferentes temperaturas. O melhor resultado obtido foi de 11,5% de germinação em papel mata-borrão, a 25° C.

## 2.5 ESTAQUIA

Segundo FACHINELLO *et al.* (1994), a estaquia é o processo de propagação vegetativa no qual ocorre indução do enraizamento adventício em segmentos destacados da planta matriz que, uma vez submetidos a condições favoráveis, originam uma muda.

É o método mais comumente utilizado em espécies que apresentam facilidade de enraizamento de estacas. As aplicações da estaquia são, em geral, multiplicação de variedades ou espécies que possuem aptidão para emitir raízes adventícias, produção de porta-enxertos clonais e perpetuação de novas variedades oriundas de processos de melhoramento genético.

Este método apresenta várias vantagens, como a produção de grandes quantidades de mudas em pouco espaço, a partir de um número limitado de plantas matrizes, uniformidade das plantas obtidas, ausência de incompatibilidade entre

enxerto e porta-enxerto, baixo custo e rapidez, facilidade de execução, não requerendo mão-de-obra ou equipamentos especiais. O método só não é recomendado para as espécies que possuem um baixo potencial genético de enraizamento.

### 2.5.1 Princípios anatômicos do enraizamento

A capacidade de formação de raízes em uma estaca está baseada em duas características básicas das células vegetais, a dediferenciação, processo pelo qual células já diferenciadas de um tecido voltam a ter atividade meristemática e originam um novo ponto de crescimento, e a totipotência, conceito introduzido por Haberlandt em 1902, que é a habilidade que cada célula possui em gerar um novo indivíduo completo, já que contém toda a informação genética necessária para tal.

Quando do preparo da estaca, a lesão causada pelo corte é cicatrizada por uma camada de suberina, que protege o local danificado da desidratação e de ataques de patógenos. Em geral, nessa região forma-se um calo, ou seja, uma massa de células parenquimatosas, que representa o início do processo de regeneração. As células que se tornaram meristemáticas se dividem e originam os primórdios radiculares. Após isso, as células adjacentes ao câmbio e ao floema iniciam a formação de raízes adventícias (FACHINELLO *et al.*, 1994). Para HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997), é muito comum que as raízes surjam a partir do calo, o que pode indicar que o mesmo é essencial para a formação do sistema radicial.

Segundo HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997), durante a formação das raízes adventícias, quatro etapas podem ser observadas:

1. desdiferenciação das células;
2. formação de células iniciais de raízes próximas aos feixes vasculares;
3. formação de primórdios radiciais;
4. desenvolvimento dos primórdios e emergência das raízes adventícias já conectadas ao sistema vascular da estaca.

Dependendo da espécie, as raízes adventícias podem surgir da base da estaca ou em nós ao longo do caule, ou mesmo nos entrenós.

#### 2.5.2 Princípios fisiológicos do enraizamento

Segundo FACHINELLO *et al.* (1994), a capacidade que uma estaca possui em emitir raízes é função de fatores endógenos e exógenos (ambientais) aos quais o material é exposto. Além disso, de acordo com o mesmo autor, tem sido observado que a formação de raízes adventícias deve-se à interação de fatores existentes nos tecidos e à translocação de substâncias localizadas nas folhas e gemas. Entre estas substâncias estão os reguladores de crescimento.

As auxinas são os principais reguladores de crescimento que atuam no processo de enraizamento, pois ativam a divisão das células do câmbio vascular e promovem o crescimento das plantas, além de influenciarem na inibição das gemas laterais e na abscisão de folhas e frutos. As auxinas mais utilizadas no enraizamento de estacas são o ácido indol acético (IAA), o ácido indol butírico (IBA) e o ácido naftaleno acético (NAA). A auxina é sintetizada nas gemas apicais e folhas novas e translocada para a base da planta. A aplicação exógena de auxina pode estimular o

enraizamento até um certo nível, a partir do qual seu efeito é inibitório. A dosagem correta a ser aplicada depende da espécie em questão e da concentração do regulador existente no tecido (FACHINELLO *et al.*, 1994).

Segundo SKOOG e TSUI (1951)<sup>3</sup>, citados por KOCH (1999), o modelo de diferenciação do meristema é influenciado pela proporção entre auxinas e citocininas, e ainda entre outras substâncias, como a adenina, que promove a divisão celular. Quando a quantidade de auxina é elevada em relação à citocinina ou adenina, são formados primórdios de raízes. Quando é intermediária, ocorre somente formação de calo e, quando é baixa, não ocorre formação de calo nem enraizamento, só o aparecimento de gemas foliares.

Outros reguladores de crescimento relevantes são as giberelinas, como o ácido giberélico que, em altas concentrações, inibe o enraizamento; as citocininas, que têm efeito estimulador na divisão celular na presença de auxinas; o ácido abscísico e o etileno que, em baixas concentrações, estimulam a formação e desenvolvimento de raízes. Além dos reguladores de crescimento, outras substâncias naturais, os cofatores de enraizamento, que atuam sinergicamente com as auxinas, são essenciais para o processo. Estes cofatores (por exemplo, o ácido isoclorogênico e terpenóides oxigenados) são sintetizados nas gemas e folhas jovens, e em maior quantidade nas estacas retiradas de plantas jovens. São translocados pelo floema dos locais de síntese até a base das estacas. Dessa forma, percebe-se a importância da manutenção das folhas e gemas nas estacas (FACHINELLO *et al.*, 1994).

---

<sup>3</sup> SKOOG, F.; TSUI, G. Growth substances and formation of buds in plant tissues. In: SKOOG, F. **Plant growth substances**. Madison: University of Wisconsin Press, 1951, p. 263-285.



### 2.5.3 Fatores que afetam o enraizamento

Segundo FACHINELLO *et al.* (1994), os fatores que afetam o processo de enraizamento podem ser divididos em dois grupos: fatores internos: condição fisiológica da planta matriz, idade da planta, tipo de estaca, potencial genético de enraizamento, sanidade, balanço hormonal, oxidação de compostos fenólicos, polaridade e presença de folhas na estaca; fatores externos: época do ano, temperatura, luz, umidade, substrato, condicionamento.

#### 2.5.3.1 Fatores internos

As condições fisiológicas (conjunto de características internas) da planta matriz são determinantes para o sucesso do enraizamento. Segundo FACHINELLO *et al.* (1994), as estacas terão uma maior porcentagem de enraizamento se retiradas de matrizes não expostas a déficit hídrico, com boa condição nutricional, principalmente no que se refere ao teor de carboidratos, e com relação C/N adequada, proporcionando um bom equilíbrio na formação de parte radicular e aérea.

Para HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997), níveis moderados de nitrogênio e adequados de carboidratos favorecem o enraizamento. Já para MOE e ANDERSEN (1988), o enraizamento geralmente está correlacionado negativamente com o conteúdo de nitrogênio das estacas.

Quanto à idade da planta, geralmente estacas retiradas de plantas jovens enraizam com maior facilidade. Isso se deve provavelmente ao fato de que à medida

que aumenta a idade da planta, aumenta também o conteúdo de inibidores e diminui a quantidade de cofatores de enraizamento (FACHINELLO *et al.* 1994).

O tipo de estaca a ser utilizado (herbácea, lenhosa ou semilenhosa) varia de acordo com a espécie ou até mesmo variedade, e sua escolha é tão importante quanto mais difícil for o enraizamento. No caso de estacas semilenhosas, os melhores resultados são observados quando utilizadas as porções apicais dos ramos. Isto pode ser atribuído a uma maior concentração neste local de promotores de enraizamento, pela proximidade com os sítios de síntese das auxinas e à menor diferenciação dos tecidos (FACHINELLO *et al.* 1994).

Segundo MOE e ANDERSEN (1988), a variação sazonal na capacidade de enraizamento de estacas indica que a condição fisiológica da matriz, no momento da coleta da estaca, é de grande importância no processo de rizogênese.

Segundo FACHINELLO *et al.* (1994), o ataque de fungos, bactérias ou vírus pode ocasionar a morte das estacas, antes ou depois da formação das raízes, afetando a qualidade do sistema radicular da muda e a sobrevivência da mesma.

Para que ocorra o enraizamento, é preciso que haja um balanço adequado de diversos reguladores de crescimento, principalmente as auxinas, giberelinas e citocininas. Esse balanço hormonal pode ser conseguido por meio da aplicação exógena de reguladores de crescimento. Além disso, o contato de fenóis com o oxigênio do ar, quando do corte da estaca, provoca reações de oxidação cujos produtos são tóxicos aos tecidos vegetais. Esse efeito pode ser minimizado pelo uso de substâncias anti-oxidantes, tais como o ácido ascórbico e o ácido cítrico (FACHINELLO *et al.* 1994).

Segundo HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997), a polaridade é uma característica inerente de brotações e raízes pela qual, nas estacas de ramos, as

brotações se formam na porção distal da estaca e as raízes na porção proximal. Quando uma estaca é cortada, o equilíbrio fisiológico é perturbado. Isto causa a redistribuição de muitas substâncias, como as auxinas. A correlação entre a polaridade na formação de raízes e o movimento polar das auxinas é evidente. O transporte das auxinas é um processo ativo que ocorre pelas células parenquimáticas do floema. Além disso, a polaridade no transporte da auxina varia de intensidade de acordo com o tecido.

As folhas contribuem no processo de enraizamento por serem, assim como as gemas, fonte de auxinas que, após a síntese, são translocadas para a base das estacas. Além disso, as folhas também têm sua importância pela continuidade do processo de fotossíntese, que é responsável pela produção de carboidratos e sua acumulação na base das estacas. Os carboidratos acumulados servem de fonte de energia para a diferenciação e desenvolvimento de novas raízes (HARTMANN; KESTER; DAVIES JR., 1997). Em diversas espécies o efeito positivo da presença das folhas nas estacas já foi demonstrado, como para goiabeira (PEREIRA; OIOLI; BANZATO, 1983), abacateiro (REUVENI; RAVIV, 1981), araçazeiro (NACHTIGAL et al., 1994), pessegueiro e nectarineira (BIASI; DE BONA, 2000) e marcela (IKUTA, 1993; PARDO, 1995).

Para algumas espécies a presença das folhas nas estacas é determinante para o enraizamento, sendo que as estacas sem folhas não enraizam (BIASI; POMMER; PINO, 1997).

O efeito benéfico das folhas também já foi relatado na estaquia semilenhosa de *Mikania glomerata* (BIASI et al., 1998).

### 2.5.3.2 Fatores externos

A época do ano mais adequada à coleta de estacas para enraizamento depende da espécie em questão. Estacas coletadas na primavera/verão são mais herbáceas, e as coletadas no outono/inverno, mais lignificadas. Essa lignificação poderia prejudicar o enraizamento mas, por outro lado, protege a estaca da desidratação. Já a elevação da temperatura favorece a divisão celular, mas também provoca um aumento na taxa de transpiração, que pode levar ao murchamento da estaca. Ainda, pode favorecer o surgimento de brotações antes que tenha ocorrido o enraizamento, o que é indesejável (FACHINELLO *et al.*, 1994).

A importância da luminosidade no processo de enraizamento se deve à fotossíntese e à degradação de compostos fotolábeis, como as auxinas. Em geral, estacas retiradas de matrizes expostas à baixa luminosidade tendem a enraizar melhor, provavelmente devido à preservação das auxinas e de outras substâncias endógenas (FACHINELLO *et al.*, 1994).

Segundo HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997), a luminosidade pode afetar o enraizamento de duas formas: fotossinteticamente e morfogenicamente. O fotoperíodo influencia na fotossíntese, alterando o conteúdo de carboidratos. Quanto mais fotossíntese, mais carboidratos são produzidos e mais eficiente é o enraizamento.

A turgidez das células é necessária para que haja divisão celular. O potencial de perda de água em uma estaca é muito grande, seja por meio das folhas ou das brotações em desenvolvimento. Por isso, é de extrema importância a prevenção ao murchamento. O uso da nebulização intermitente permite a redução da perda da umidade pela formação de uma película de água sobre as folhas, além da

diminuição da temperatura, com manutenção da atividade fotossintética em estacas com folhas. No entanto, a umidade excessiva favorece o desenvolvimento de patógenos (FACHINELLO *et al.*, 1994).

O substrato mais adequado varia de acordo com a espécie. Ele destina-se a sustentar as estacas durante o período de enraizamento, mantendo sua base em ambiente úmido, escuro e aerado. Os efeitos do substrato sobre a quantidade e qualidade de raízes formadas relacionam-se principalmente à sua porosidade, que afeta o teor de água retida e a aeração (FACHINELLO *et al.*, 1994).

Segundo KÄMPF (1993), a literatura especializada cita como propriedades ideais para um substrato hortícola a baixa densidade, alto poder tampão e estabilidade de estrutura.

Para HARTMANN; KESTER e DAVIES JR. (1997) e FACHINELLO *et al.* (1994), o bom substrato deve apresentar as seguintes características: ser firme e denso o suficiente para segurar a estaca e apresentar volume constante quando seco ou úmido; ser poroso o suficiente, para drenar o excesso de água, permitindo a aeração do substrato na base da estaca, permitindo a iniciação e o desenvolvimento das raízes; reter uma certa quantidade de umidade, tal que não sejam necessárias irrigações frequentes; ser livre de sementes, nematóides e patógenos; não ser salino; permitir a esterilização por calor ou produtos químicos; permitir que as estacas sejam removidas com um mínimo de dano; baixo custo de aquisição e de fácil obtenção; não conter ou liberar qualquer tipo de substância que exerça efeito fitotóxico na planta.

PUCHALSKI e KÄMPF (1999), determinaram que os melhores substratos para a produção de mudas de *Hibiscus rosa-sinensis* L. são espuma fenólica e casca de arroz carbonizada, sendo que esta última apresentou maior crescimento do sistema

radicial, o que poderia reduzir o período de enraizamento e antecipar o transplante. Já no caso de *Limonium latifolium*, a casca de arroz carbonizada se mostrou um substrato inadequado, pois resultou em plantas menos desenvolvidas (SCHENEIDER; KÄMPF, 1999).

Segundo BIASI e DE BONA (2000), a casca de arroz carbonizada também se apresentou como o substrato mais indicado na propagação, via estaquia, de carqueja.

Em experimento visando a avaliação de substratos para o cultivo do tomateiro, ANDRIOLO *et al.* (1999), concluíram que o uso isolado da casca de arroz carbonizada, apesar de ser de baixo custo, é inconveniente pois, além de reduzir a produção de frutos, exige irrigações frequentes.

A casca de arroz carbonizada, de fácil obtenção no sul do Brasil, tem se mostrado como material adequado para uso em misturas como substratos na produção de tomate e espécies floríferas anuais, bem como substituto para a fibra de xaxim, no cultivo de *Asplenium*. A mistura de casca de arroz carbonizada e turfa, na proporção 1:1, foi considerada a melhor para a produção de mudas de maracujá (BELLÉ; KÄMPF, 1993).

Quando a espécie é de difícil enraizamento, podem ser utilizados alguns tratamentos que facilitem o processo, tais como a aplicação exógena de reguladores de crescimento, anelamento, estiolamento, dobra de ramos, etc (FACHINELLO *et al.*, 1994).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos com estaquia de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata* foram conduzidos na casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo (DFF), do Setor de Ciências Agrárias (SCA), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba - PR.

A avaliação no campo das duas espécies foi realizada na Fazenda Experimental do Canguiri da UFPR, localizada no município de Pinhais - PR.

A análise fitoquímica das plantas foi realizada no Laboratório de Fitoquímica, do Departamento de Farmácia, do Setor de Ciências da Saúde da UFPR.

#### 3.2 ESCOLHA DAS PLANTAS MATRIZES (CONTROLES)

As plantas controle da espécie *Mikania glomerata* foram obtidas a partir de estacas selecionadas da planta matriz existente no Setor de Plantas Medicinais da Fazenda Experimental do Canguiri da UFPR. No caso da *Mikania laevigata*, as estacas que originaram as plantas controle foram retiradas da reserva de mata existente na mesma Fazenda.

Vinte estacas de cada espécie foram plantadas, sem qualquer tratamento com regulador de crescimento, em sacos plásticos de 10 litros, tendo solo como substrato, e mantidas na casa de vegetação do DFF como plantas identificadas, com a finalidade de manutenção de banco genético, controle de matrizes e fonte de material para herbário. Com o fim do presente trabalho, estas plantas, na medida do possível, foram transferidas para a Fazenda do Canguiri.

### 3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

As exsicatas das duas espécies foram identificadas pelo professor: Prof. Olavo de Araújo Guimarães, sendo incorporadas ao herbário do Departamento de Botânica da UFPR, com os números 39385 - *Mikania glomerata* Sprengel e 39384 - *Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker; pela Prof.<sup>a</sup> Mara Ritter, sendo incorporadas ao Herbário do Depto. de Botânica da UFRGS, sob os números ICN 116508 - *Mikania glomerata* Sprengel e ICN 116507 - *Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker; e pela Prof.<sup>a</sup> Marta Dias de Moraes, sendo incorporadas ao Herbário da UNICAMP, sob os números UEC 110401 - *Mikania glomerata* Sprengel e UEC 110400 - *Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker. O aspecto morfológico das duas espécies pode ser observado nas Figuras 1 e 2.



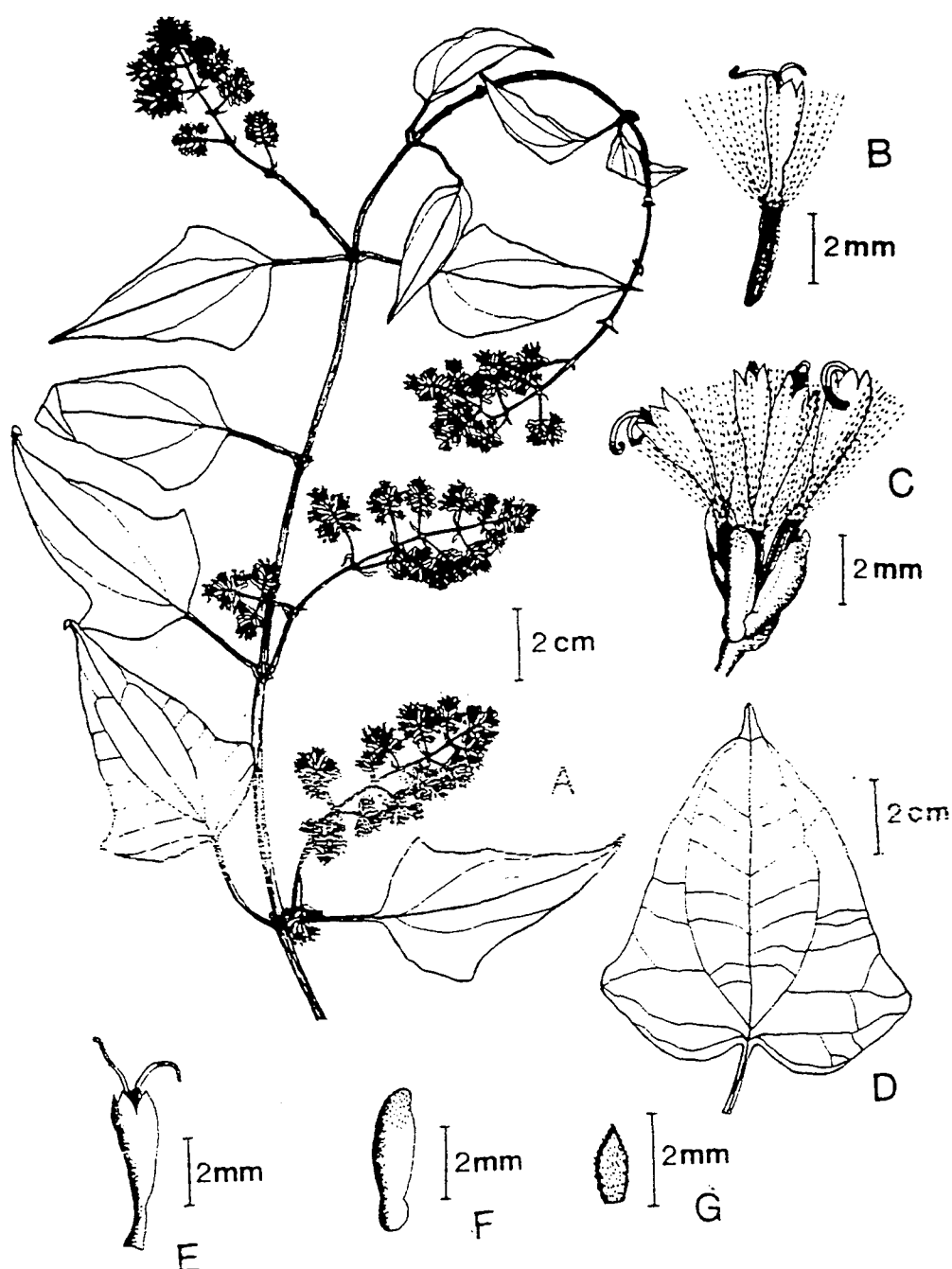


FIGURA 1 – ASPECTO MORFOLÓGICO DE *Mikania glomerata*: A – RAMO; B – FLOR; C – CAPÍTULO; D – FOLHA; E – COROLA; F – BRÁCTEA INVOLUCRAL; G – BRACTÉOLA (RITTER; BAPTISTA, MATZENBACHER, 1992)

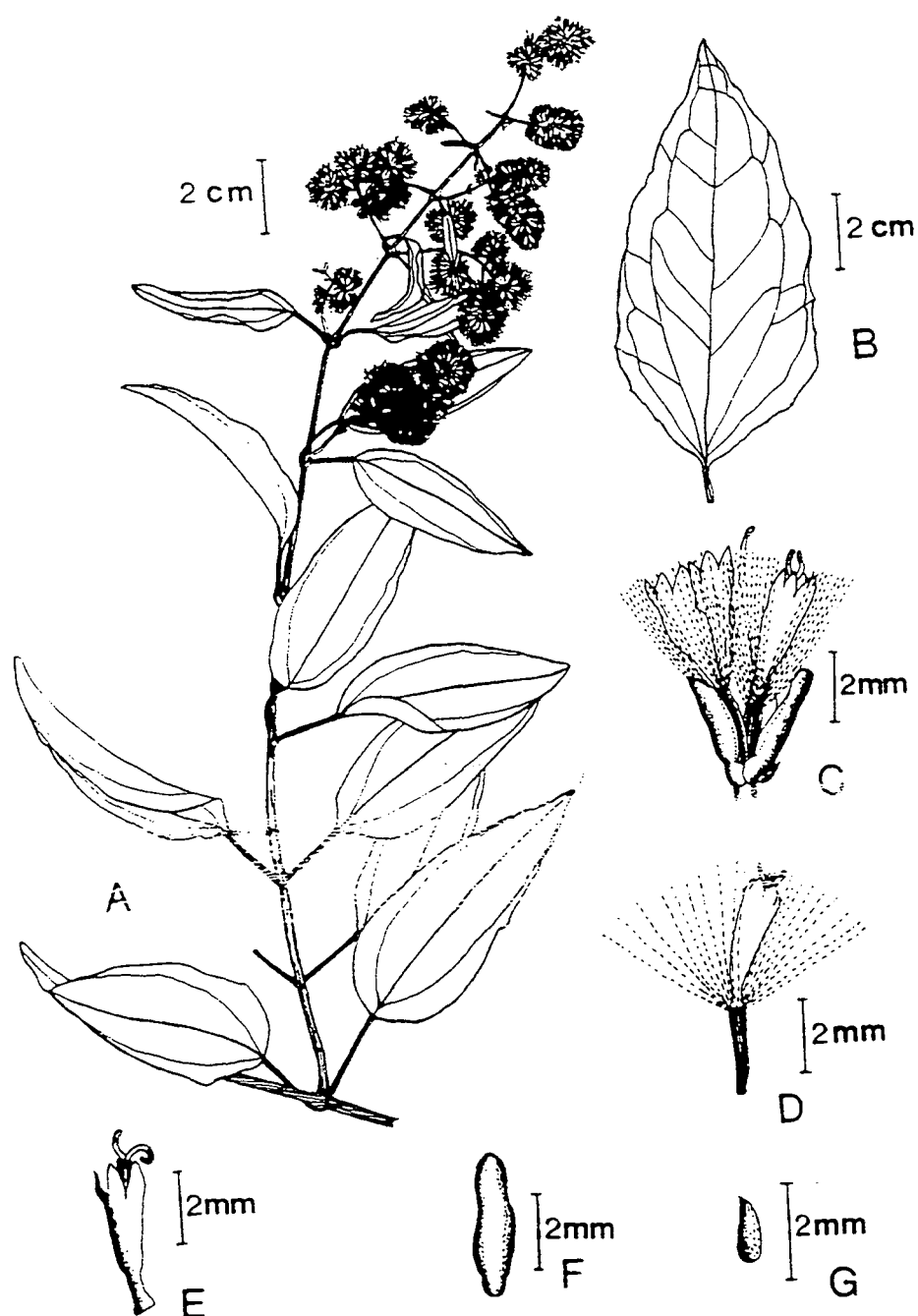


FIGURA 2 – ASPECTO MORFOLÓGICO DE *Mikania laevigata*: A – RAMO; B – FOLHA; C – CAPÍTULO; D – FLOR; E – COROLA; F – BRÁCTEA INVOLUCRAL; G – BRACTÉOLA (RITTER; BAPTISTA, MATZENBACHER, 1992)

### 3.4 EXPERIMENTOS DE ESTAQUIA

Após a coleta dos ramos no campo, os mesmos foram colocados em sacos plásticos para evitar a desidratação durante o transporte.

As estacas foram retiradas da parte mediana dos ramos das plantas matrizes, entre o terceiro e o nono nó, tendo o diâmetro variando de 0,7 a 1,0 cm, comprimento de aproximadamente 12 cm e um nó. Durante o preparo, as estacas foram acondicionadas em bandejas plásticas contendo água, para evitar a desidratação.

#### 3.4.1 Efeito da área foliar na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

O experimento foi instalado em bancada de madeira de 4 x 1m, com fundo de tela plástica, tendo como substrato casca de arroz carbonizada.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições e vinte estacas por parcela, com os seguintes tratamentos, levando-se em conta que uma folha adulta tem aproximadamente 50 cm<sup>2</sup>:

- 1) 0 cm<sup>2</sup>
- 2) 5 cm<sup>2</sup>
- 3) 25 cm<sup>2</sup>
- 4) 50 cm<sup>2</sup>
- 5) 100 cm<sup>2</sup>

Para se conseguir determinada área foliar, as folhas foram cortadas com tesoura, segundo um molde de borracha de área conhecida e com formato quadrado, preparado para cada tratamento.

Os experimentos foram instalados em câmara de nebulização com irrigação intermitente durante dois minutos, com intervalo de rega de trinta minutos.

As estacas foram coletadas no dia 03/11/98. A avaliação foi feita após 75 dias, sendo observados os seguintes parâmetros: porcentagem de enraizamento, de mortalidade e de brotação, número de raízes por estaca, volume, massa fresca e seca de raízes.

#### 3.4.2 Efeito de diferentes substratos, em dois sistemas de irrigação, na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

As estacas utilizadas possuíam um nó com um par de folhas inteiras cada, comprimento de 12 cm e diâmetro de 0,7 a 1,0 cm.

O experimento foi realizado em parcelas subdivididas com delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições e vinte estacas por parcela, totalizando 960 estacas.

As parcelas contaram com dois tipos de ambiente: câmara de nebulização com irrigação intermitente durante dois minutos, com intervalo de rega de trinta minutos e casa de vegetação sem nebulização. As subparcelas compreenderam três tipos de substrato: casca de arroz carbonizada, areia e solo. As parcelas sem nebulização foram irrigadas com mangueira diariamente. Os dois ambientes testados encontravam-se dentro da mesma casa de vegetação.

A instalação se deu no dia 09/03/99, e a avaliação foi feita após 60 dias, segundo os seguintes parâmetros: porcentagem de enraizamento, de mortalidade e de brotação, comprimento de brotações, volume, massa fresca e seca de raízes e retenção foliar.

A análise física dos substratos foi realizada segundo o procedimento descrito por FRETZ; READ e PEELE (1979) (Tabela 1).

TABELA 1. RESULTADO DA ANÁLISE FÍSICA DOS SUBSTRATOS.

Substrato	Densidade (g.L <sup>-1</sup> )	EPT* (% volume)	ARCC* (% volume)	EACC* (% volume)
Casca de arroz	243,0	75,5	34,8	40,7
Solo	1061,0	47,5	27,7	19,8
Areia	1368,0	32,5	16,6	15,9

\* EPT: espaço poroso total; ARCC: água retida na capacidade de campo; EACC: espaço de ar na capacidade de campo.

#### 3.4.3 Efeito do tempo de imersão em água na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

As estacas utilizadas possuíam um nó com um par de folhas cada, comprimento de 12 cm e diâmetro de 0,7 a 1,0 cm.

Os tratamentos realizados foram os seguintes períodos de imersão das estacas em água:

- 1) 0 hora

2) 3 horas

3) 6 horas

4) 12 horas

5) 24 horas

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições e vinte estacas por parcela, totalizando 400 estacas. O substrato utilizado foi a casca de arroz carbonizada.

O experimento foi instalado no dia 04/05/99. A avaliação foi feita após 90 dias, segundo os seguintes parâmetros: porcentagem de enraizamento, de mortalidade e de brotação, comprimento de brotações, volume, massa fresca e seca de raízes, retenção foliar.

### 3.5 COMPARAÇÃO A CAMPO DO RENDIMENTO AGRONÔMICO DAS PLANTAS OBTIDAS POR ESTAQUIA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*

O plantio foi realizado no Setor de Plantas Medicinais da Fazenda Experimental do Canguiri da UFPR, em covas espaçadas de 1,0 m na linha e 2,0 m nas entrelinhas. A condução das mudas se deu em espaldeira de três fios, com 0,80 m, 1,20 m e 1,60 m de altura, e com 8,0 m de comprimento.

As mudas foram obtidas pela estaquia semilenhosa de ambas espécies em casca de arroz carbonizada. Após o enraizamento das estacas, estas foram levadas diretamente para o campo.

Os tratamentos foram:

1) *Mikania glomerata*

## 2) *Mikania laevigata*

O delineamento foi em blocos casualizados, com três repetições e três plantas por parcela.

O plantio foi realizado no dia 25/11/98. A avaliação foi realizada em abril de 2000, com base na produção de folhas (massa seca), no Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do SCA da UFPR.

### 3.6 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*

Para a preparação dos extratos hidroalcoólico e aquoso, utilizou-se plantas coletadas da Fazenda Experimental do Canguiri, no início dos meses de maio e julho de 1998, no período da manhã.

#### 3.6.1 Extrato hidroalcoólico

O extrato hidroalcoólico a 20% (EtOH 70% + água destilada) foi preparado por extração a frio, durante uma semana, do filtrado obtido a partir de 40 g de folhas e pecíolos estabilizados e triturados.

Além das características organolépticas (cor, odor, sabor e pH), foi pesquisada a porcentagem de resíduo seco e presença ou ausência de determinados metabólitos secundários. A metodologia utilizada para cada pesquisa foi:

### 3.6.1.1 Extrato seco

Uma cápsula seca, previamente tarada, foi levada à estufa com tiragem de ar úmido e, no interior desta cápsula, usando uma pipeta volumétrica, foram colocados 20 mL do extrato. A pesagem foi feita após a secura do material. Com a determinação da massa, procedeu-se ao cálculo da porcentagem de resíduo seco.

### 3.6.1.2 Alcalóides

Evapourou-se 20 mL do extrato hidroalcoólico até a secura, e o resíduo foi tratado com gotas de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (até se atingir o pH 8-10), com posterior adição de 10 mL de água destilada. A solução foi agitada com 10 mL de clorofórmio. A camada clorofórmica (a mais densa) foi transvasada para um tubo de ensaio contendo 10 mL de HCl a 1%. Agitou-se e separou-se a solução ácida (a menos densa) com o auxílio de uma pipeta. Após isso, foram realizados os testes com os reativos gerais:

- a) a 1 mL da solução adicionou-se 3 a 5 gotas do reativo de Mayer; a formação de um precipitado branco indica a presença de alcalóides;
- b) a 1 mL da solução adicionou-se 3 gotas do reativo de Dragendorff, de acordo com Munier. A formação de um precipitado alaranjado acusa a presença de alcalóides;
- c) a 1 mL da solução adicionou-se 3 gotas do reativo de Bertrand; a formação de um precipitado branco indica a presença de alcalóides;
- d) a 1 mL da solução adicionar 3 a 5 gotas do reativo de Bouchardat; a formação de um precipitado alaranjado indica a presença de alcalóides.



### 3.6.1.3 Cumarinas

Foi transferido para um becker, de 250 mL de capacidade, 50 mL do extrato, com posterior adição de 5 mL de HCl 1N; o volume foi reduzido em banho-maria até 10 mL. Após isso, adicionou-se 5 mL de água destilada e procedeu-se à extração em funil de separação com éter, por três vezes, com 5 mL cada. O volume foi então reduzido em banho-maria para 5 mL.

Em papel de filtro, foram marcados três pontos com lápis; em cada ponto foi colocada uma gota do extrato etéreo concentrado e o papel foi levado para secagem em estufa a 100 °C. Em seguida, foi colocada uma gota de NaOH a 10% sobre a mancha 1 e 2, e o papel foi levado à câmara de ultravioleta. Cobriu-se a mancha 1 com uma moeda e observou-se o desenvolvimento de fluorescência azul a amarelo esverdeada na mancha 2, indicando a reação positiva para a presença de cumarinas. A mancha 3 serviu como repetição.

Confirmou-se a reação transferindo para um tubo de ensaio o restante do extrato etéreo e 2 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado que, quando agitado, apresentou fluorescência na câmara de UV.

### 3.6.1.4 Glicosídeos flavônicos

Transferiu-se para um tubo de ensaio 5 mL de extrato, juntamente com 200 mg de limalha de ferro; adicionou-se lentamente 1 mL de HCl fumegante (reação exotérmica que deve ser feita na capela, em um becker com gelo). O desenvolvimento de uma coloração rósea ou vermelha indica a presença de flavonóides.

#### 3.6.1.5 Glicosídeos antraquinônicos

Transferiu-se 50 mL do extrato alcoólico para um balão de refluxo e adicionou-se 5 mL da solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 10%. Acoplado a um condensador, o balão foi levado a refluxo por 30 minutos. Após isso, filtrou-se ainda quente sobre papel de filtro, adicionou-se 30 mL de água destilada e transferiu-se o produto para um funil de separação, para extração com 15 mL de clorofórmio.

Separada a camada orgânica, colocou-se 5 mL em um tubo de ensaio e efetuou-se a reação de Borntrægger, pela adição de 5 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Depois de agitar lentamente, observou-se a coloração. O desenvolvimento de coloração rósea indica a presença de antraquinonas.

#### 3.6.1.6 Esteróides e ou triterpenóides

Evaporou-se 20 mL do extrato à secura, e o resíduo foi dissolvido com 5 mL de clorofórmio. Depois de filtrado, o volume foi completado para 5 mL.

Em três tubos de ensaio foram colocados respectivamente 0,1 mL, 0,5 mL e 1,0 mL da solução acima, e o volume foi completado para 2 mL com clorofórmio. Adicionou-se 1 mL de ácido acético e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo de ensaio. A formação de coloração rosa escuro ou azul-esverdeado indica a presença de esteróides.

#### 3.6.1.7 Aminogrupos

Concentrou-se 10 mL do extrato em banho-maria. No papel de filtro, foram feitas duas manchas com o extrato concentrado, que foram então secas em estufa. Sobre uma das manchas, gotejou-se o reativo de ninhidrina, e novamente o papel foi

levado à estufa para secagem. O desenvolvimento de coloração róseo-violáceo ou azul-violáceo indica a presença de aminogrupos.

#### 3.6.1.8 Leucoantocianidinas

Transferiu-se para um funil de separação 10 mL do extrato, e procedeu-se à extração, por duas vezes, com 15 mL de clorofórmio cada. As frações clorofórmicas foram reunidas e concentradas a 5 mL. Foram adicionadas 5 gotas de HCl concentrado, aquecendo-se à ebulição. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva.

#### 3.6.2 Extrato aquoso

O extrato aquoso a 20% foi preparado por extração a quente (2 horas em banho-maria, a 60° C), utilizando 40 g de folhas e pecíolos estabilizados e triturados. O produto obtido foi filtrado e, se necessário, o volume foi completado até o desejado.

Além das características organolépticas (cor, odor, sabor e pH), foi pesquisada a porcentagem de resíduo seco e presença ou ausência de determinados metabólitos secundários. A metodologia utilizada para cada pesquisa foi:

##### 3.6.2.1 Extrato seco

Uma cápsula seca, previamente tarada, foi levada à estufa com tiragem de ar úmido e, no interior desta cápsula, usando uma pipeta volumétrica, foram colocados

20 mL do extrato. A pesagem foi feita após a secagem do material. Com a determinação da massa, procedeu-se ao cálculo da porcentagem de resíduo seco.

### 3.6.2.2 Taninos condensados e hidrolisados

#### a) Reação com sais de ferro

##### a1) Reação com $\text{FeCl}_3$ a 1%

Transferiu-se 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio e adicionou-se 3 a 5 gotas de  $\text{FeCl}_3$ . O desenvolvimento de coloração azul, verde, mistura de cores ou a formação de precipitado indica a presença de taninos.

##### a2) Reação com $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$

Transferiu-se 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio e adicionou-se 3 a 5 gotas de  $\text{FeCl}_3$ . O desenvolvimento de coloração azul, verde, mistura de cores ou a formação de precipitado indica a presença de taninos.

#### b) Reação com solução de gelatina a 2,5%, em NaCl a 0,9%

Transferiu-se para três tubos de ensaio, respectivamente, 0,5 mL, 1,0 mL e 2,0 mL do extrato aquoso. Adicionou-se a cada tubo 2,0 mL da solução de gelatina a 2,5%. A obtenção de precipitado indica a presença de taninos.

#### c) Reação com sais de chumbo

Transferiu-se 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio; adicionou-se 5 mL de ácido acético a 10% e, gota a gota, 5 mL da solução de acetato de chumbo. A formação de precipitado indica a presença de taninos.

d) Reação de formol-clorídrico (reação de Stanishy)

Transferiu-se para um balão de 100 mL de capacidade, 50 mL do extrato aquoso, mais 6 mL de formaldeído e 4 mL de HCl concentrado. O balão foi acoplado a um condensador e levado a refluxo por uma hora. Depois de frio, o filtrado foi adicionado de excesso de acetato de sódio e de gotas de solução aquosa de  $\text{FeCl}_3$  a 1%. O desenvolvimento de coloração azul indica a presença de taninos hidrolisáveis.

O resíduo do filtrado, isento de formol-clorídrico, foi gotejado com solução aquosa de NaOH a 5%. O desenvolvimento de coloração indica a presença de taninos condensados.

### 3.6.2.3 Glicosídeos cianogenéticos

Transferiu-se para um tubo de ensaio, de modo a não umedecer as paredes do tubo, 5 mL do extrato aquoso mais 1 mL de solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1N. Com o auxílio de uma rolha de cortiça, uma tira de papel picro-sódico foi suspensa no tubo, não tocando o extrato. O tubo de ensaio foi levado então a banho-maria, a 60 °C, por trinta minutos. O desenvolvimento de coloração avermelhada indica a presença de glicosídeos cianogenéticos.

### 3.6.2.4 Glicosídeos antociânicos

Três porções do extrato aquoso, de 5 mL cada, foram separadas em três tubos de ensaio, do seguinte modo:

- a) 1º tubo – acidificar com HCl ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1N (até pH 2-3)
- b) 2º tubo – alcalinizar com  $\text{NH}_4\text{OH}$  (até pH 9-10)
- c) 3º tubo – neutralizar

Observaram-se as colorações: cores diferentes indicam reação positiva para glicosídeos antociânicos.

#### 3.6.2.5 Glicosídeos saponínicos

Os três tubos de ensaio anteriores (item 3.6.2.4) foram agitados por um minuto. A espuma formada foi medida, e os tubos foram deixados em repouso por trinta minutos. A existência de espuma persistente indica a presença de glicosídeos saponínicos.

#### 3.6.2.6 Ácidos fixos

Transferiu-se para um balão 50 mL do extrato e 5 mL de NaOH, 1N. Acoplado o condensador, levou-se o balão a refluxo por trinta minutos. Depois de fria, a solução foi acidificada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e extraída com éter, três vezes, com 10 mL de cada vez. Os extratos etéreos foram reunidos, tratados com carvão ativado, filtrados e evaporados em banho maria. O resíduo foi aquecido durante 10 minutos, em estufa, a 100 °C. Depois de frio, foram adicionados 5 mL de solução aquosa de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1N.

O extrato amoniacal foi filtrado, e três gotas foram transferidas para papel de filtro, em dois pontos previamente determinados, de modo a obter manchas de 1 cm de diâmetro. O papel foi então seco em estufa a 100 °C, por 10 minutos. Depois de seca, a mancha foi tratada com reagente de Nessler. O desenvolvimento de coloração marrom indica a presença de ácidos fixos.

#### 3.6.2.7 Ácidos voláteis

Transferiu-se para um tubo de ensaio 5 mL do extrato aquoso e 1 mL de solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1N. Uma tira de papel indicador foi suspensa com o auxílio de uma rolha, e o tubo foi levado a banho-maria, a 60 °C, por trinta minutos. A mudança de coloração do papel indicador de pH indica a presença de ácidos voláteis.

#### 3.6.2.8 Aminogrupos

Concentrou-se 20 mL do extrato até 5 mL. Em papel de filtro, em dois pontos determinados, depositou-se cinco gotas do extrato concentrado em cada ponto. Depois de seco em estufa a 100 °C, foi nebulizada nihidrina. Por 15 minutos, o papel foi aquecido em estufa, a 100 °C. O aparecimento de coloração rósea ou azul-violáceo indica a presença de aminogrupos.

Os procedimentos descritos acima foram repetidos para cada uma das espécies estudadas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EXPERIMENTOS DE ESTAQUIA

#### 4.1.1 Efeito da área foliar na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

Para as duas espécies, todas as variáveis, exceto número de raízes emitidas por estaca e porcentagem de estacas brotadas em *M. glomerata*, apresentaram significância estatística (Tabela 2, Anexos 1, 2 e 3).

As espécies testadas apresentaram diferente resposta quanto a presença de folhas para o enraizamento das estacas, sendo um fator determinante para *M. glomerata*. Neste caso, as estacas sem folhas (0 cm<sup>2</sup>) apresentaram um enraizamento muito baixo (11,25%) em relação às estacas com 100 cm<sup>2</sup> de área foliar (92,50%). Em *M. laevigata*, a diferença entre os dois tratamentos extremos foi pequena (81,25% e 97,50%, respectivamente), sendo observados índices altos de enraizamento, mesmo na ausência de folhas (Tabela 2).

Em experimento semelhante, BIASI; POMMER e PINO (1997), não obtiveram enraizamento de estacas de videira, dos porta-enxertos Jales e Campinas, sem a presença de folhas.



A presença de folhas nas estacas tem efeito benéfico, visto que são o principal local onde se dá a fotossíntese (síntese de carboidratos) e também por serem fonte de auxinas e cofatores de enraizamento, que são translocados para a base das estacas, contribuindo para o processo morfogênético de formação de novos tecidos, como as raízes (HARTMANN; KESTER; DAVIES JR., 1997). Em diversas espécies já foi relatada a importância das folhas durante o processo de enraizamento em estacas semilenhosas, dentre elas para a goiabeira (PEREIRA; OIOLI; BANZATO, 1983), abacateiro (REUVENI; RAVIV, 1981), araçazeiro (NACHTIGAL et al., 1994), pessegueiro e nectarineira (BIASI; DE BONA, 2000) e marcela (IKUTA, 1993; PARDO, 1995).

Em *M. glomerata*, a área foliar não influenciou no número de raízes/estaca (Figura 3), mas teve efeito no volume (Figura 4), massa fresca (Figura 5) e massa seca de raízes (Figura 6). Já no caso de *M. laevigata*, todos os parâmetros avaliados foram influenciados pela variação da área foliar (Tabela 2, Anexos 1 a 4).

Em experimento com videira, a área foliar teve efeito positivo sobre a emissão e crescimento das raízes, avaliado em termos de número, massa e volume de raízes (BIASI; POMMER; PINO, 1997). Já para alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*), a utilização de estacas semilenhosas com um par de folhas apresentou resultados de enraizamento e massa de folhas e raízes, inferiores às estacas sem folhas, mas com estacas herbáceas os melhores resultados foram com a presença de folhas (EHLERT; LUZ; INNECCO, 2000).

O aumento da área foliar causou um pequeno aumento na porcentagem de enraizamento de estacas em *M. laevigata*, mas a influência na brotação e na mortalidade de estacas foi marcante (Tabela 2). Para todos os parâmetros, a análise de variância apresentou dados altamente significativos (Anexo 4).

Em *M. glomerata*, a análise de variância apontou significância estatística para os parâmetros enraizamento e mortalidade (Anexo 4). A brotação não foi afetada pela área foliar, porém o enraizamento sofreu um grande acréscimo e a mortalidade foi bastante reduzida com o aumento da área foliar (Tabela 2). No caso de estacas brotadas, houve diferença significativa entre os blocos (diâmetro de estaca e posicionamento na casa de vegetação), mas não entre os tratamentos (Anexo 4).

BIASI; POMMER e PINO (1997), em experimento com videira, apontaram que só houve brotação em estacas do porta-enxerto Jales quando estas possuíam folhas, não ocorrendo diferença entre as áreas foliares testadas. Já no caso do porta-enxerto Campinas, mesmo as estacas sem folhas brotaram.

TABELA 2. EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO ENRAIZAMENTO, BROTAÇÃO E MORTALIDADE DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 4).

Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Enraizamento (%)		Estacas brotadas (%)		Estacas mortas (%)	
	M.		M.		M.	
	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>
0	11.25 d <sup>1</sup>	81.25 b	6.25 <sup>2</sup>	33.75 ab	68.75 a	11.25 a
5	40.00 c	96.25 a	28.75	47.50 a	36.25 b	0.00 b
25	77.50 ab	97.50 a	28.75	23.75 ab	6.25 c	1.25 b
50	67.50 b	96.25 a	20.00	8.75 b	8.75 bc	1.25 b
100	92.50 a	97.50 a	18.75	7.50 b	1.25 c	1.25 b
CV (%)	14.14	4.70	55.80	56.62	52.16	101.20

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias não diferem significativamente pelo teste F da análise de variância.

Também é importante ressaltar que *M. laevigata* apresentou um desenvolvimento do sistema radicial maior do que *M. glomerata*, com maior número de raízes emitidas por estaca (Figura 3), maior volume (Figura 4), maior massa fresca (Figura 5) e maior massa seca (Figura 6). Isso talvez possa ser explicado pelo fato de *M. glomerata* possuir folhas de consistência mais membranosa e, conseqüentemente, mais sujeitas à perda de água, ao contrário de *M. laevigata*, de folhas mais coriáceas e, portanto, mais resistentes.

O aspecto das estacas enraizadas pode ser observado na Figura 7.

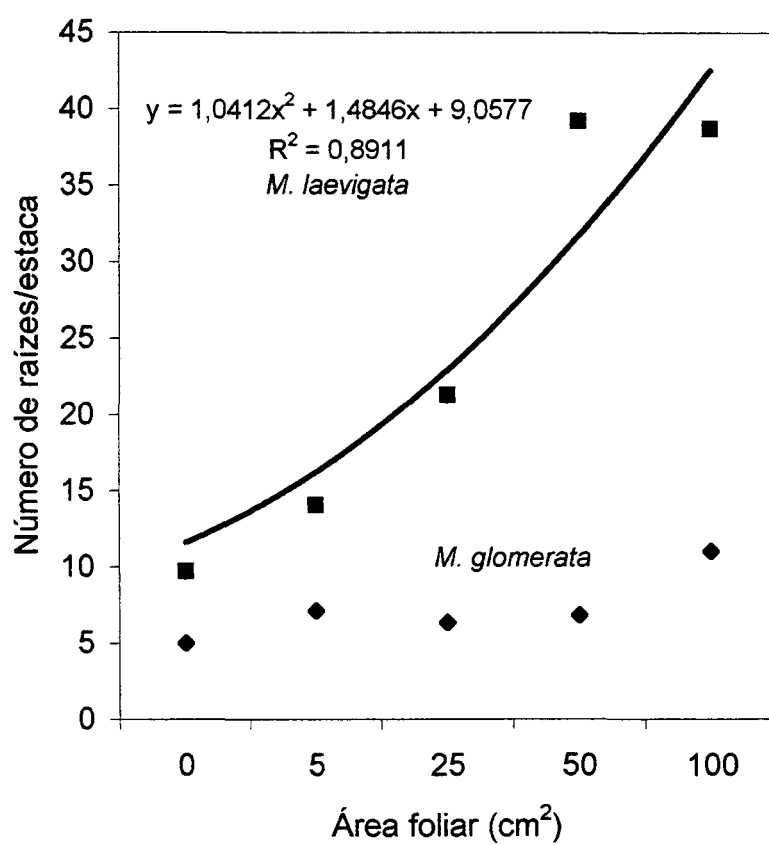


FIGURA 3 - EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*.

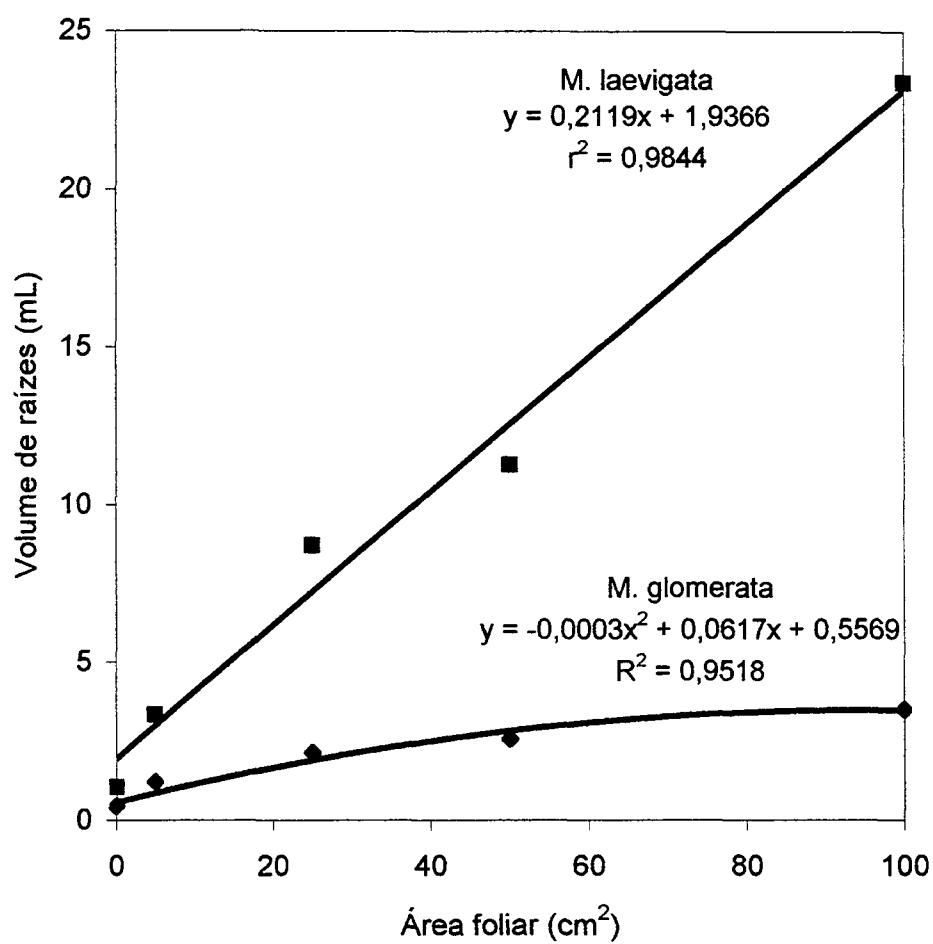


FIGURA 4 - EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO VOLUME DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*.

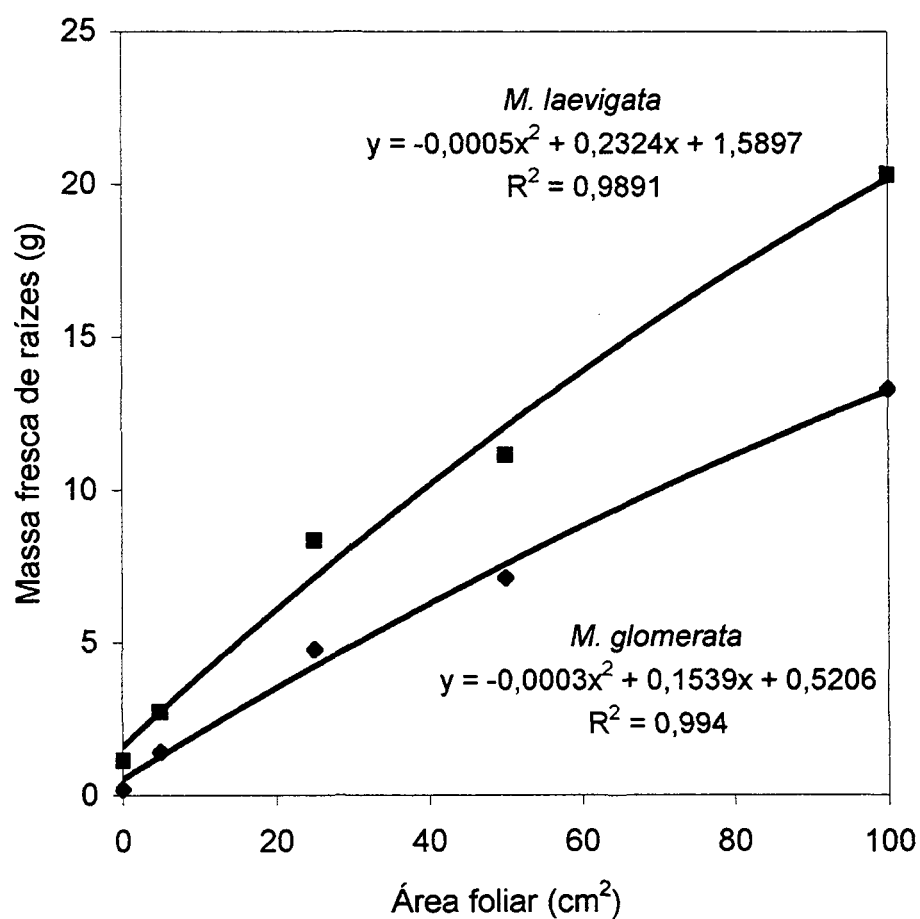


FIGURA 5 - EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA FRESCA DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*.

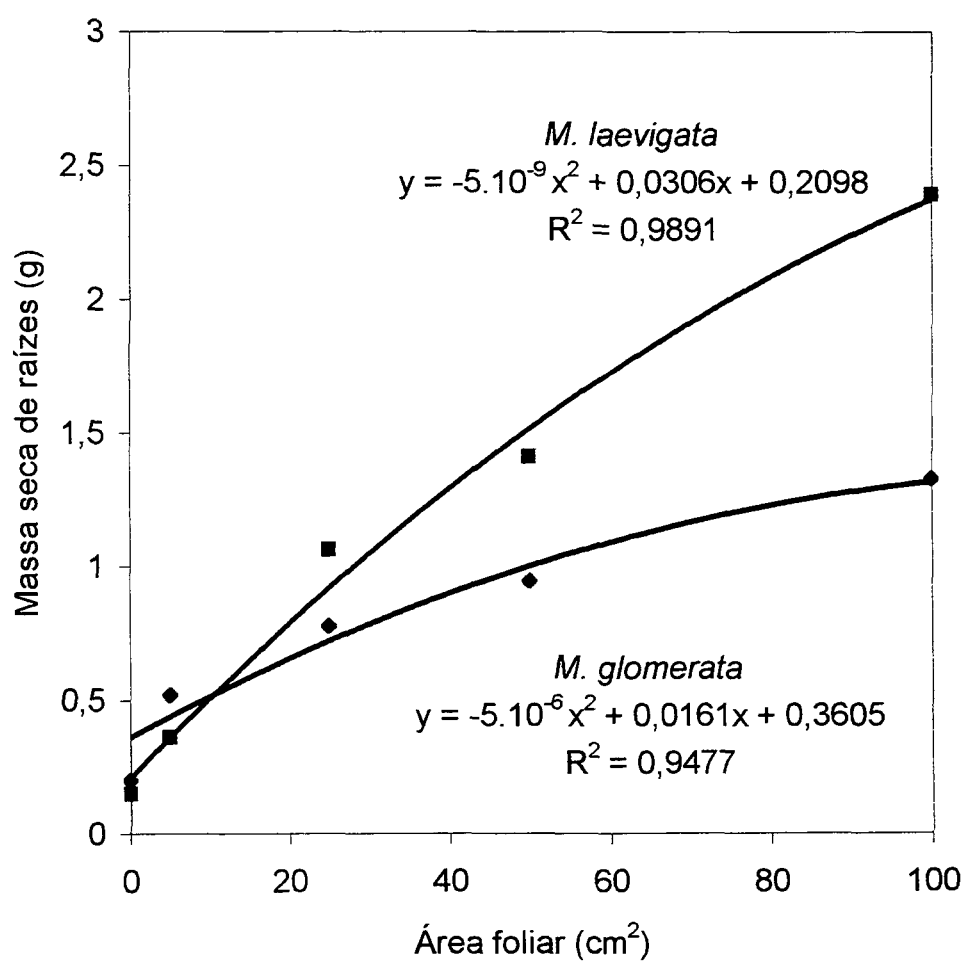


FIGURA 6 - EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA SECA DE RAÍZES EMITIDAS POR ESTACA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*.



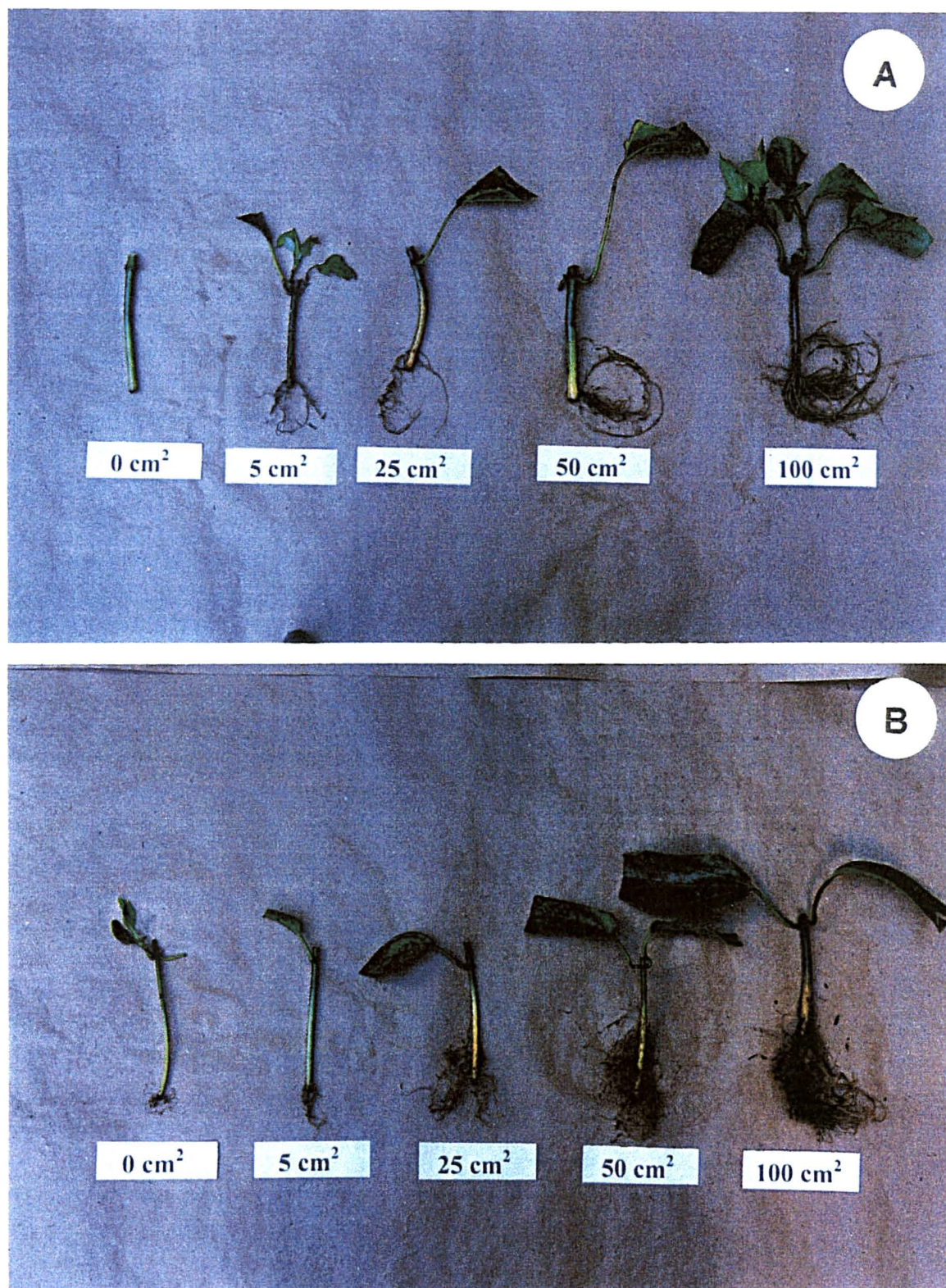


FIGURA 7. ASPECTO DO ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS DE *Mikania glomerata* (A) E *Mikania laevigata* (B), EM DIFERENTES ÁREAS FOLIARES.



#### 4.1.2 Efeito de diferentes substratos, em dois sistemas de irrigação, na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

Para a espécie *Mikania glomerata*, houve interação entre os fatores substrato e meio ambiente somente nas variáveis mortalidade de estacas e retenção foliar, (Tabelas 3 a 5) (Anexos 5 a 8). No caso de *M. laevigata*, houve interação entre substrato e sistema de irrigação em todos as variáveis, exceto enraizamento (Tabelas 6 a 8) (Anexos 5 a 8).

O melhor enraizamento, tanto para *M. glomerata* quanto para *M. laevigata*, se deu com casca de arroz, e o pior no solo, nos dois sistemas de irrigação (Tabelas 3 e 6). Quanto à brotação, não houve diferença entre os substratos e o sistema de irrigação para *M. glomerata*, sendo os maiores valores encontrados em casca de arroz e solo (Tabela 3). Já para *M. laevigata*, não houve diferença entre os substratos no ambiente sem nebulização, enquanto que no ambiente com nebulização, casca e solo foram superiores à areia (Tabela 7).

No caso da mortalidade, os índices mais baixos foram com o substrato casca de arroz sem nebulização para *M. glomerata* e casca de arroz sem nebulização e areia com nebulização, para *M. laevigata*, e o pior, para as duas espécies, em solo sem nebulização (Tabelas 4 e 7). A menor retenção foliar, para *M. glomerata*, foi em casca com nebulização, e para *M. laevigata* foi em solo com nebulização (Tabelas 4 e 7).

O comprimento médio das brotações foi maior, para *M. laevigata*, em solo sem nebulização e, para *M. glomerata*, não houve diferença entre os tratamentos (Tabelas 5 e 8). Para ambas as espécies, o volume médio de raízes emitidas por estaca foi maior em casca de arroz carbonizada (Tabelas 5 e 8), concordando com

os resultados obtidos por BIASI e DE BONA (2000), na estaquia de carqueja (*Baccharis trimera*), onde o volume de raízes por estaca, em casca de arroz carbonizada, foi praticamente o dobro dos demais substratos. A forma de irrigação também afetou o volume de raízes, sendo encontrados os maiores valores com a irrigação diária para ambas espécies (Tabelas 4 e 8).

As massas fresca e seca foram maiores em casca de arroz sem nebulização e menores em solo e areia com nebulização, para *M. laevigata* (Tabela 8). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por BIASI e DE BONA (2000), que trabalhando com a estaquia semilenhosa de carqueja, também observaram maior desenvolvimento do sistema radicial com casca de arroz carbonizada em comparação com solo, areia e vermiculita. Na produção de mudas de amor-perfeito e tomate, KÄMPF (1993), também observou melhor desenvolvimento num substrato contendo casca de arroz carbonizada do que com areia.

Já para *M. glomerata*, a massa fresca foi maior em casca de arroz e a massa seca não apresentou diferença entre os tratamentos. Quanto ao sistema de irrigação, também não houve diferença (Tabela 5). Na estaquia herbácea e semilenhosa de alfavaca cravo em ambiente com nebulização, também foi observado comportamento semelhante quanto a massa seca de raízes, em diversos substratos. Mas, observando outras variáveis analisadas, os autores recomendaram a mistura de arisco + esterco (20%), húmus (40%) e vermiculita (40%) como substrato para estacas da posição mediana (EHLERT; LUZ; INNECCO, 2000).

De modo geral, tanto para *M. glomerata* quanto para *M. laevigata*, observou-se um melhor comportamento do substrato casca de arroz em ambiente sem nebulização. Isso pode ser devido ao fato deste substrato possuir, em relação aos demais estudados, maior capacidade de retenção de água, maior espaço poroso e

menor densidade (Tabela 1), permitindo um bom desenvolvimento das estacas, mesmo sem nebulização.

Por ter menor capacidade de retenção de água e menor espaço poroso (Tabela 1), o solo não se mostrou um substrato adequado para as espécies em questão. SCHMITZ; SOUZA e KÄMPF (1999), avaliando as características físicas de diversos substratos, comentaram que materiais minerais como solo e areia, possuem excessiva densidade e reduzida porosidade, sendo deficientes em aeração.

De acordo com os resultados encontrados, o guaco parece ser uma planta mais exigente em aeração do que em umidade no substrato para a estaquia. Os resultados inferiores obtidos sob nebulização em comparação com a irrigação diária, confirmam esta hipótese, pois devido à elevada frequência de rega no ambiente nebulizado, o espaço de ar provavelmente estava reduzido pela água irrigada. Este comportamento é diferenciado e característico para cada espécie, pois para *Limonium latifolium*, as mudas crescem melhor em substratos com maior retenção de água (SCHNEIDER; KÄMPF, 1999).

BIASI *et al.* (1995) também observaram uma exigência diferenciada quanto às características físicas do substrato, trabalhando com tomateiro e maracujazeiro amarelo. Misturas com maior quantidade de bagaço de cana, tornaram o substrato mais poroso, favorecendo a emergência do tomateiro e desfavorecendo a do maracujazeiro, que se desenvolveu melhor nos substratos com maior quantidade de turfa, conferindo maior retenção de água à mistura.

TABELA 3. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO E BROTAÇÃO DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 5).

Substrato	Enraizamento (%)	Brotação (%)
Casca	88,12 A <sup>1</sup>	25,00 A
Areia	76,87 A	10,00 A
Solo	56,87 A	26,26 A
Nebulização		
Sem	70,83 a	21,67a
Com	77,08 a	19,17a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MORTALIDADE (%) E RETENÇÃO FOLIAR (%) DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 6).

Nebulização	Substrato		
	Casca de arroz carbonizada	Areia	Solo
Mortalidade (%)			
Sem	0,00 Ba <sup>1</sup>	3,75 Ba	53,75 Aa
Com	18,75 Ab	6,25 Ba	17,50 Ab
Retenção Foliar (%)			
Sem	99,38 Aa	96,25 Aa	93,75 Aa
Com	86,25 Bb	96,25 Aa	91,25 Aba

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 5. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXOS 7 E 8).

Substrato	Comprimento de brotações (cm)	Volume de raízes (mL)	Massa fresca de raízes (g)	Massa seca de raízes (g)
Casca	3,06 A <sup>1</sup>	31,37 A	30,51 A	3,32 A
Areia	2,61 A	11,06 A	11,03 AB	1,89 A
Solo	2,74 A	8,62 A	8,29 B	1,24 A
Nebulização				
Sem	3,91 a	23,00 a	22,66 a	2,86 a
Com	1,70 a	11,04 a	10,57 a	1,45 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 6. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 5).

Substrato	Enraizamento (%)
Casca	94,38 A <sup>1</sup>
Areia	85,00 AB
Solo	65,00 B
Nebulização	
Sem	80,00 a
Com	82,92 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 7. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA BROTAÇÃO, MORTALIDADE E RETENÇÃO FOLIAR DE ESTACAS DE *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXOS 5 E 6).

Nebulização	Substrato		
	Casca de arroz carbonizada	Areia	Solo
Brotação (%)			
Sem	31,25 Aa <sup>1</sup>	30,00 Aa	37,50 Aa
Com	28,75 Aa	2,50 Bb	18,75 Ab
Mortalidade (%)			
Sem	3,75 Ba	12,50 Ba	37,50 Aa
Com	7,50 Ba	3,75 Bb	18,75 Ab
Retenção Foliar (%)			
Sem	95,63 Aa	91,88 Aa	88,75 Aa
Com	83,13 Aa	94,38 Aa	56,88 Bb

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 8. EFEITO DO SUBSTRATO E DO SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E MASSA SECA DE RAÍZES DE *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, ANEXO 7 E 8).

Nebulização	Substrato		
	Casca de arroz carbonizada	Areia	Solo
Comprimento (cm)			
Sem	2,85 Ba	3,08 Ba	5,33 Aa
Com	1,55 Ab	0,20 Bb	1,10 ABb
Volume (mL)			
Sem	32,87 Aa	13,12 Ca	21,50 Ba
Com	24,50 Ab	5,37 Bb	2,77 Bb
Massa fresca (g)			
Sem	37,15 Aa	14,62 Ca	22,34 Ba
Com	24,20 Ab	4,84 Bb	2,54 Bb
Massa seca (g)			
Sem	4,67 Aa	1,78 Ba	2,65 Ba
Com	2,34 Ab	1,21 Aba	0,42 Bb

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.3 Efeito do tempo de imersão em água na propagação de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*

Neste experimento, para ambas as espécies, nenhuma das variáveis apresentou significância estatística (Anexos 9 a 12, Tabelas 9 e 10).

Para a variável enraizamento, este resultado é semelhante ao encontrado por DESCHAMPS *et al.* (1996), onde em experimento utilizando estacas de guaco de 15 cm de comprimento e com duas folhas pela metade, os autores não obtiveram aumento do enraizamento pela imersão da base da estaca em água destilada.

**TABELA 9. EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NA RETENÇÃO FOLIAR, ENRAIZAMENTO, BROTAÇÃO E MORTALIDADE DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, ANEXOS 9 E 10).**

Horas de imersão	Retenção foliar (%)		Enraizamento (%)		Brotação (%)		Mortalidade (%)	
	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.
	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>
0	98,13 <sup>1</sup>	92,50 <sup>1</sup>	98,75	95,00	59,00	3,75	0,00	1,25
3	96,25	90,00	97,50	98,75	54,50	6,25	0,25	0,00
6	97,50	92,50	98,75	92,50	53,00	1,25	0,00	2,50
12	96,88	90,63	100,00	97,50	58,00	8,75	0,00	1,25
24	98,13	91,25	100,00	98,75	61,50	10,00	0,00	1,25
CV (%)	1,46	4,55	2,11	6,90	8,49	85,39	2236,07	205,39

<sup>1</sup>Médias não diferem significativamente pelo teste F da análise de variância



TABELA 10. EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES, VOLUME, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, ANEXOS 11 E 12).

Horas de imersão	Comprimento de brotações (cm)		Volume de raízes (mL)		Massa fresca de raízes (g)		Massa seca de raízes (g)	
	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.
	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>
0	6,50 <sup>1</sup>	0,20 <sup>1</sup>	78,13	10,75	79,07	10,27	6,43	1,26
3	6,14	0,35	72,50	10,75	77,43	11,74	6,80	1,18
6	6,16	0,80	75,63	10,75	73,15	12,38	6,95	1,18
12	6,36	0,25	70,00	11,25	79,46	13,14	6,78	1,21
24	6,36	0,85	75,00	12,00	81,46	14,01	6,99	1,34
CV (%)	11,68	119,75	7,23	5,46	6,00	20,86	6,60	15,21

<sup>1</sup> Médias não diferem significativamente pelo teste F da análise de variância.

Em todas as variáveis, com exceção de porcentagem de retenção foliar, enraizamento e mortalidade de estacas, *M. glomerata* apresentou valores de uma grandeza muito maior do que *M. laevigata* (Tabelas 9 e 10).

A hidratação da base das estacas é uma prática cultural que visa aumentar o pegamento das mesmas, sendo uma prática útil e de fácil de aplicação em condições de viveiro (BAUTISTA *et. al*, 1981).

Em estudo sobre o efeito da imersão em água sobre o enraizamento de estacas de videira cultivar Criolla Negra, utilizando intervalos de 12 horas, variando entre 0 e 96 horas, BAUTISTA e VARGAS (1984), observaram diferenças estatísticas altamente significativas para a massa seca radicial e foliar, com uma clara tendência a diminuição, à medida em que aumentam os períodos de hidratação. A variável mortalidade de estacas, ao contrário, apresentou correlação positiva.

Segundo BAUTISTA e VARGAS (1984), a hidratação parece favorecer o processo de enraizamento devido uma ação ativadora dos processos fisiológicos dos meristemas ou pela ação solvente da água sobre as substâncias inibidoras do enraizamento. Para estes mesmos autores, o fato de o crescimento do sistema radicial e das brotações também diminuir com o aumento do tempo de imersão, deve-se à lixiviação de substâncias das estacas para o meio externo, causando uma queda de reservas. A mortalidade crescente de estacas, de acordo com o tempo de imersão, foi devida à dessincronização entre a brotação e o enraizamento.

O aspecto das estacas de guaco pode ser observado na Figura 8.

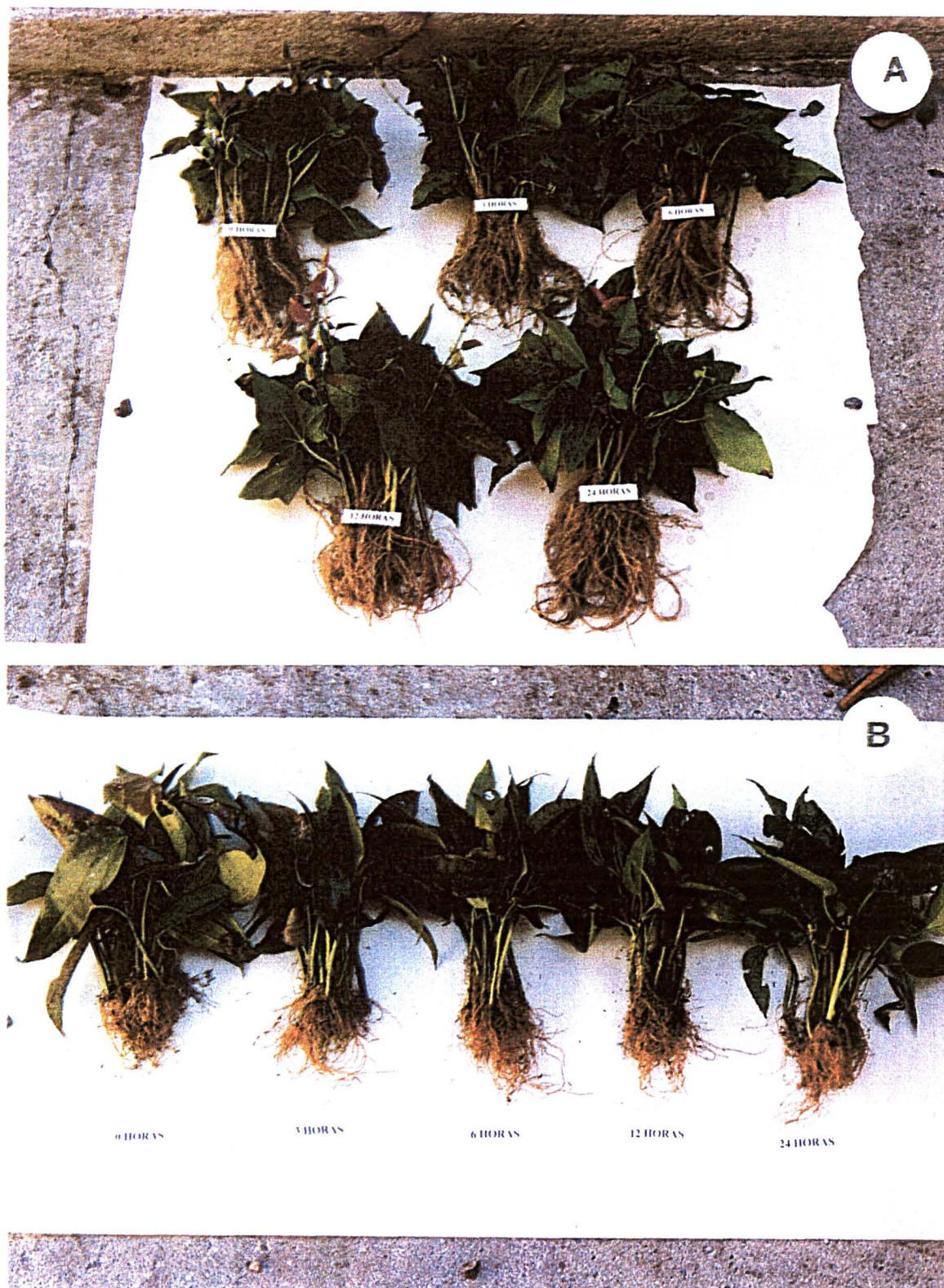


FIGURA 8. ASPECTO DO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* (A) E *Mikania laevigata* (B), 90 DIAS APÓS A IMERSÃO DAS ESTACAS EM ÁGUA.

#### 4.2 COMPARAÇÃO A CAMPO DO RENDIMENTO AGRONÔMICO DAS PLANTAS OBTIDAS POR ESTAQUIA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*

O crescimento vegetativo inicial foi visualmente semelhante entre as duas espécies avaliadas. Entretanto, a ocorrência de uma geada durante o inverno de 1999 ocasionou a morte de todas as plantas da espécie *Mikania glomerata*. Neste dia (15/08/1999), foi registrada temperatura mínima de  $-2,2^{\circ}\text{C}$  no posto meteorológico localizado na própria Fazenda Experimental do Canguiri (Anexo 13). Segundo CORREA JÚNIOR; MING e SCHEFFER (1994), esta espécie é afetada pela geada em campo aberto.

Neste experimento, foi possível observar que a tolerância ao frio é diferente entre as duas espécies de *Mikania*, pois enquanto as plantas de *M. glomerata* morreram, as plantas de *M. laevigata* não apresentaram nenhum sintoma visual de dano (Figura 9), continuando o seu desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, pois estas estavam no início da formação das inflorescências.

Apesar da maior tolerância ao frio encontrada em *Mikania laevigata*, esta espécie não pode ser considerada resistente à geada pois, no inverno do ano 2000, com a ocorrência de várias geadas fortes (Anexo 14), todas as plantas de *Mikania laevigata* do Setor de Plantas Medicinais da Fazenda Experimental do Canguiri também morreram.





FIGURA 9. ASPECTO DAS PLANTAS DE *Mikania glomerata* (ESQUERDA) E *Mikania laevigata* (DIREITA) APÓS A GEADA, NO INVERNO DE 1999.

SIMÕES *et al.* (1995) citam que *M. laevigata* é a espécie mais abundante no Rio Grande do Sul, sendo rara a espécie *M. glomerata*. Talvez este fato possa estar associado à maior tolerância ao frio verificada em *M. laevigata*.

A colheita de folhas e ramos de *M. laevigata* foi realizada após 17 meses do plantio, sendo obtida uma média de 501,5 g de matéria seca por planta. Com o espaçamento utilizado de 2 x 1 m, pode-se estimar a obtenção de 2,5 t/ha de matéria seca de guaco. Este resultado está bastante próximo do relatado por CORREA JÚNIOR; MING e SCHEFFER (1994), que citam o rendimento de 1,5 a 2,5 t/ha de planta seca, por CASTRO e CHEMALE (1995), que citam a produção de 1,6 a 2,0 t/ha (8 a 10 t/ha de folhas e ramos com redução de 80% após a secagem) e por MAGALHÃES (1997), que cita a obtenção de 1,95 t/ha de folhas e ramos secos após 16 meses, no primeiro corte.

MONTANARI (1999) citou que a primeira colheita pode ser realizada aos 16 meses após o plantio, e o rendimento por planta pode chegar até 8 kg de massa fresca, havendo uma redução de 75% da massa após a secagem.

### 4.3 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata*

#### 4.3.1 *Mikania glomerata*

O extrato alcoólico de *M. glomerata* apresentou coloração verde escura, odor herbáceo, adocicado e aromático, sabor amargo e pH 6,5. O extrato seco apontou um resíduo de 14,85%. Foram ainda encontrados os seguintes grupos de substâncias:

- alcalóides: negativo para os quatro reagentes;
- cumarinas: fracamente positivo (fluorescência fraca);
- glicosídeos flavônicos: negativo;
- glicosídeos antraquinônicos: negativo;
- esteróides e ou triterpenóides: positivo em todas as concentrações;
- aminogrupos: negativo;
- leucoantocianidinas: negativo.

O extrato aquoso da mesma espécie apresentou cor marrom escuro, odor e sabor herbáceo adocicado e pH 5,0. O resíduo seco foi de 8,93%. Foram encontrados os seguintes grupos de substâncias:

- taninos condensados e hidrolisados: positivo nas reações de sais de chumbo e formol-clorídrico, negativo nas demais;

- glicosídeos cianogenéticos: negativo;
- glicosídeos saponínicos: fracamente positivo;
- glicosídeos antociânicos: negativo;
- ácidos fixos: negativo;
- ácidos voláteis: positivo, pH 3,5;
- aminogrupos: negativo.

OLIVEIRA *et al.* (1983), utilizando o extrato fluido desta mesma espécie, fizeram determinações mensais ao longo de um ano e encontraram valores de pH variando de 5,24 a 5,47 e de resíduo seco variando de 16,21% a 17,80%.

Em outro experimento, OLIVEIRA *et al.* (1985b), encontraram para quatro amostras da espécie, valores de pH variando de 5,7 a 5,9 e, de resíduo seco variando de 16,21% a 17,95%.

Os resultados de glicosídeos antociânicos e saponínicos, ácidos fixos e voláteis, foram opostos aos encontrados por NEVES e SÁ (1991). Mas, para glicosídeos cianogenéticos e taninos, os resultados foram iguais aos dos autores.

A presença de cumarinas no extrato hidroalcoólico de *M. glomerata* é confirmada nos trabalhos de OLIVEIRA *et al.* (1984).

O resultado fracamente positivo para os glicosídeos saponínicos também foi encontrado por LUCAS (1942), que em seu trabalho detectou uma pequena quantidade do composto.

Os taninos e esteróides encontrados e o resultado negativo para glicosídeos flavônicos foram confirmados por OLIVEIRA *et al.* (1984). Segundo os mesmos autores, não foi constatada a presença de antraderivados.



#### 4.3.2 *Mikania laevigata*

O extrato alcoólico de *M. laevigata* apresentou como características a cor verde escura, odor aromático, adocicado e suave, lembrando a baunilha, sabor amargo e pH neutro (6,0). O extrato seco apresentou um resíduo de 6,94%. Por meio das análises químicas foi possível identificar os seguintes grupos de compostos:

- alcalóides: negativo para os quatro reagentes;
- cumarinas: altamente positivo (fluorescência forte);
- glicosídeos flavônicos: negativo;
- glicosídeos antraquinônicos: negativo;
- esteróides e ou triterpenóides: positivo nas três concentrações;
- aminogrupos: positivo;
- leucoantocianidinas: negativo.

O extrato aquoso da mesma espécie apresentou cor marrom escuro, odor herbáceo adocicado, sabor herbáceo amargo e pH 5,5. O resíduo seco foi de 11,61%. Foram encontrados os seguintes grupos de substâncias:

- taninos condensados e hidrolisados: positivo nas quatro reações;
- glicosídeos cianogenéticos: negativo;
- glicosídeos saponínicos: fracamente positivo;
- glicosídeos antociânicos: negativo;

- ácidos fixos: negativo;
- ácidos voláteis: negativo;
- aminogrupos: negativo.

OLIVEIRA *et al.*(1985b), em experimento utilizando quatro amostras do vegetal, encontraram valores de pH variando de 5,4 a 5,7 e de resíduo seco variando de 11,67 a 13,41.

Os resultados encontrados nos extratos hidroalcoólico e aquoso de *M. laevigata* foram semelhantes aos obtidos por ANTONÁCIO (1996). O citado trabalho diferiu do presente apontando, resultados positivos para glicosídeos antraquinônicos, glicosídeos antociânicos, ácidos fixos e aminogrupos.

A identificação fitoquímica dos compostos também foi semelhante à obtida por OLIVEIRA *et al.* (1984). Os autores no entanto, constataram a presença de alcalóides mas, segundo LUCAS (1942), o resultado positivo obtido pode ter sido devido à presença de cumarinas.

Os resultados positivos para esteróides e glicosídeos saponínicos e negativos para glicosídeos flavônicos coincidem com os obtidos por OLIVEIRA *et al.* (1984).

#### 4.3.3 Comparação fitoquímica

Tanto o extrato hidroalcoólico quanto o aquoso das duas espécies são semelhantes, diferindo em apenas alguns pontos. O extrato hidroalcoólico de *M. glomerata* apresenta um valor de resíduo seco duas vezes maior que o de

*M. laevigata*, além de resultado negativo para aminogrupos, ao contrário da outra espécie.

Já o extrato aquoso de *M. glomerata* apresenta um valor de resíduo seco bem inferior ao verificado em *M. laevigata*, além de resultado negativo em duas reações de taninos e resultado positivo para ácidos voláteis, ao contrário da outra espécie.

A presença do marcador cumarina em *Mikania laevigata* indica que esta espécie pode ser usada como sucedânea de *Mikania glomerata*.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos estudos realizados, conclui-se que:

1. É possível a utilização de *Mikania laevigata* como sucedânea de *Mikania glomerata*.
2. Na propagação de guaco, via estaquia, obteve-se melhores resultados com o uso de área foliar de 100 cm<sup>2</sup>, que corresponde, na prática, a um par de folhas por estaca.
3. O tempo de imersão da base da estaca em água não influenciou a propagação via estaquia de guaco.
4. O melhor substrato para a propagação via estaquia de guaco foi a casca de arroz carbonizada, em ambiente sem nebulização.
5. *Mikania laevigata* apresentou maior tolerância ao frio do que *Mikania glomerata*, com uma produção de 500 g de matéria seca por planta na primeira colheita.

## REFERÊNCIAS

ANDRIOLO, J. L.; DUARTE, T. S.; LUDKE, L.; SKREBSKY, E. C. Caracterização e avaliação de substratos para o cultivo do tomateiro fora do solo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 17, n. 3, p. 215-219, 1999.

ANGELY, J. *Flora Analítica do Paraná*. São Paulo: Ed. Phytton, 1ª ed., 1965, p. 667-671.

ANTONÁCIO, C. C. Caracterização ecológica e fitoquímica de *Mikania laevigata* Schultz ex Baker em área de *Pinus elliottii* no 1º Planalto paranaense. Curitiba, 1996. 67p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná.

BARROSO, G.M. *Mikaniae* do Brasil. *Revista do Arquivo do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. 16, p. 239-333, est. 26, 28, 30, ft. 53, 1958.

BAUTISTA, A ., D.; VARGAS, G., G.; COLMENARES, J. C.; FREITEZ. Y. de. Efectos de algunos factores em el enraizamiento y brotación de la vid "Criolla Negra". *Agronomia Tropical*, v. 31, n. 1/6, p. 59-68, 1981.

BAUTISTA, A ., D.; VARGAS, G., G. La imersiona en agua y diferentes ambientes de estratificacion en el prendimiento de estacas de la vid "Criolla Negra". **Agronomia Tropical**, v. 34, n. 1/3, p. 111-118, 1984.

BELLÉ, S.; KÄMPF, A . N. Produção de mudas de maracujá-amarelo em substratos à base de turfa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 28, n. 3, p. 385-390, 1993.

BIASI, L.A.; BILIA, D.A.C.; SÃO JOSÉ, A.R.; FORNASIERI, J.L.; MINAMI, K. Efeito de misturas de turfa e bagaço de cana sobre a produção de mudas de maracujá e tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 239-243. 1995.

BIASI, L.A.; DE BONA, C.M. Propagação de carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) A.P. de Candolle por meio de estaquia. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 2, n. 2, p. 37-43. 2000.

BIASI, L. A .; DESCHAMPS, C.; DE BONA, C. M.; LIMA, N. P. Efeito da áera foliar na estaquia de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XV, Águas de Lindóia, 1998. **Anais**. p. 180.

BIASI, L. A.; POMMER, C. V.; PINO, P. A . G. S. Propagação de enxertos de videira mediante estaquia semilenhosa. **Bragantia**, v. 56, n. 2, p. 367-376, 1997.

BIASI, L.A.; STOLTE, R.E.; SILVA, M.F. Estaquia semilenhosa de pessegueiro e nectarineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 421-425.

2000

CASTRO, L. O .; CHEMALE, V. M. **Plantas medicinais condimentares e aromáticas – descrição e cultivo**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 1995.

CORREA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Botucatu: Editora da UNESP, 2. Ed., 1994.

DESCHAMPS, C.; BOEING, C.; SCHEFFER, M. C.; DONI FILHO, L. Efeito da posição e pré-tratamento de estacas no enraizamento de guaco (*Mikania glomerata* Spreng). In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 2., Botucatu, 1996. **Anais**. p. 70.

DI STASI, L. C. (org.). **Plantas Medicinais: arte e ciência – Um guia de estudo interdisciplinar**. Botucatu: Editora da UNESP, 1996.

EHLERT, P.A.D.; LUZ, J.M.Q.; INNECCO, R. Avaliação de substratos e tipos de estacas para propagação vegetativa de alfavaca-cravo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, suplem., p. 951-953. 2000.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A .; NACHTIGAL, J. C.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 1994.

FIGUEIRA, G.M.; MONTANARI JR., I.; MAGALHÃES, P.M.; PEREIRA, B.; ARCHÂNGELO JR., U. Técnicas de cultivo do guaco (*Mikania glomerata* Spreng.). **Horticultura brasileira**, v. 9, n. 1, 1991, p. 37.

FRETZ, T. A .; READ, P. E.; PEELE, M. C. **Plant propagation laboratory manual**. Minneapolis: Bengess Publishiny Company, 1979.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. F. **Plant propagation: principles and practices**. 6. Ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1997.

IKUTA, A.R. **Estudos sobre propagação de marcela, *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C., Compositae**. Porto Alegre, 1993. 205p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

KÄMPF, A . N. Substratos hortícolas: turfa e casca de arroz. **Lavoura arroeira**, v. 46, n. 409, p. 12-13. 1993.

KOCH, R. C. **Propagação vegetativa de *Passiflora actinia* Hooker por meio da micropropagação e da estaquia semilenhosa**. Curitiba, 1999. 95p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Paraná.



LEITE, M.G.R.; SILVA, M.A.M. da; LINO, C.S.; VIANA, G.S.B.; MATOS, F.J.A. Atividade broncodilatadora em *Mikania glomerata*, *Justicia pectoralis* e *Torresea cearensis*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12., Curitiba, 1992. **Anais**. p. 21.

LIMA, K.S. de; FERRO, V.O. Isolamento e identificação estrutural de cumarinas em extratos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. (Compositae). **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 33, supl. 2, p. 58, 1997.

LUCAS, V. Estudo farmacognóstico do guaco - *Mikania glomerata* Sprengel - Composta. **Revista da Flora Medicinal**, v. 9, n. 3, p. 101-132, 1942.

MAGALHÃES, P. M. **O caminho medicinal das plantas: aspectos sobre o cultivo**. Campinas: CPQBA/UNICAMP, 1. Ed., 1997.

MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O. G.; GOMES, E.C. Produção piloto do xarope de guaco *Mikania glomerata* Sprengel. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12., Curitiba, 1992. **Anais**. p. 277.

MOE, R.; ANDERSEN, A . S. Stock plant environment and subsequent adventitious rooting. In: DAVIES, T. D.; HAYSING, B. E.; SANKHLA, N. (Eds). **Adventitious rooting formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, v. 2, p. 214-234, 1988.

MONTANARI, I. Aspectos do cultivo comercial de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker). **Boletim Agroecológico**, n. 11, p. 19, 1999.

NACHTIGAL, J.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R.A.; FACHINELLO, J.C.; MAZZINI, A.R.A. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 229-235. 1994.

NEVES, L.J.; SÁ, M.F.A. Contribuição ao estudo das plantas medicinais *Mikania glomerata* Spreng. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 72, n. 2, p. 42-47, 1991.

OLIVEIRA, F. de. **Biofarmacognosia das espécies brasileiras da secção *Globosae* Robinson do gênero *Mikania* Willdenow**. São Paulo, 1983. Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M.K.; MANCINI, B.; CHUMZUM, M. Morfodiagnose do guaco - *Mikania glomerata* Sprengel - Compositae. **Revista de Ciência Farmacêutica**, v. 7, p. 17-26, 1985a.

OLIVEIRA, F. de; ALVARENGA, M.A.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Isolamento e identificação de componentes químicos de *Mikania glomerata* Sprengel e de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 20, n. 2, p. 169-183, 1984.

OLIVEIRA, F. de; OGA, S.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Parâmetros físicos e químicos e efeito antiedema dos extratos fluidos de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e do guaco do mato (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker). **Anais de Farmácia e Química**, v. 25, n. 1,2, p. 50-54, 1985b.

PARDO, V.A. **Estaquia de marcela *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. sob diferentes períodos de enraizamento e doses de ácido indolbutírico**. Porto Alegre, 1995. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

PEREIRA, F.M.; OIOLI, A.A.P.; BANZATO, D.A. Enraizamento de diferentes tipos de estacas enfolhadas de goiabeira (*Psidium guayava* L.) em câmaras de nebulização. **Científica**, Jaboticabal, v. 11, n. 2, p. 239-244. 1983.

PEREIRA, M. L.; ZANON, A.; SCHEFFER, M. C. Germinação de sementes de guaco - *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, 1995.

PUCHALSKI, L. E. A .; KÄMPF, A . N. Efeito do substrato na produção d emudas de *Hibiscus rosa-sinensis* L., em *plugs*. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: UFRGS, SEBRAE, AFLORI, 1999. p. 33-34.

REUVENI, O.; RAVIV, M. Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 2, p. 127-130. 1981.

RITTER, M.R.; BAPTISTA, L.R.M.; MATZENBACHER, N.I. Asteraceae. Gênero *Mikania* Willd. Secções *Globosae* e *Thyrsigerae*. Flora Ilustrada do Rio Grande do Sul, n. 21. **Boletim do Instituto de Biociências**, UFRGS. Porto Alegre, n. 50, p. 1-90, 1992.

SANTOS, T. C.; TOMASSINI, C. B.; CABRAL, L. M. Estudos preliminares sobre a constituição química e atividade antimicrobiana de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 79, n. 3/4, p. 54-55, 1998.

SCHNEIDER, F.; KÄMPF, A.N. Efeito de substratos na produção em *plugs* de *Limonium latifolium*. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: UFRGS, SEBRAE, AFLORI, 1999. p. 53-54.

SCHMITZ, J.A.K.; SOUZA, P.V.D.; KÄMPF, A.N. Características físicas de componentes de substratos de origem mineral e orgânica e suas misturas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: UFRGS, SEBRAE, AFLORI, 1999. p. 27-28.

SILVA JUNIOR., A . A. **Plantas Medicinais**. Itajaí: Epagri, s.d. CD-ROM.

SILVA, R.A.D. da. **Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929, p. 237,495.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A .; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 4. Ed. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1995.

TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Herbarium - Compêndio de Fitoterapia**. 2. Ed., Curitiba: Ed. Herbarium Laboratório Botânico, 1995.

UNICAMP/CPQBA - CEME. **Estudo agrônômico de plantas brasileiras dotadas de atividade farmacológica**. Relatório técnico. Paulínia, 1990.

## **ANEXOS**

ANEXO 1. EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES/ESTACA, VOLUME DE RAÍZES, MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXOS 2 E 3).

Área Foliar (cm <sup>2</sup> )	Número de raízes/estaca		Volume de raízes (mL)		Massa fresca de raízes (g)		Massa seca de raízes (g)	
	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.
	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i> <sup>1</sup>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i> <sup>1</sup>	<i>laevigata</i>
0	5,00 a <sup>2</sup>	9,67 c	0,44 d	1,05 c	0,19 d	1,14 d	0,20 c	0,15 c
5	7,14 a	14,04 bc	1,22 cd	3,35 bc	1,42 cd	2,73 cd	0,51 bc	0,36 c
25	6,35 a	21,28 b	2,13 bc	8,70 bc	4,76 bc	8,33 bc	0,77 b	1,06 b
50	6,83 a	39,20 a	2,57 ab	11,25 c	7,10 b	11,13 b	0,94 ab	1,41 b
100	11,01 a	38,68 a	3,51 a	23,38 a	13,32 a	20,32 a	1,32 a	2,39 a
CV (%)	41,92	13,19	25,80	43,29	32,64	33,01	28,13	26,01

<sup>1</sup> Dados transformados em  $x^{1/2}$

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

ANEXO 2. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NO NÚMERO DE RAÍZES/ESTACA E VOLUME DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 1).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Número de raízes/estaca		Volume de raízes	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	9,39 ns	7,25 ns	2,14 ns	10,64 ns
Tratamento	4	20,21 ns	756,73**	108,97**	305,43**
Erro	12	9,28	10,50	3,06	17,07
Total	19				

ns Não significativo

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 3. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.1, ANEXO 1).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Massa fresca de raízes		Massa seca de raízes	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	0,24 ns	9,82 ns	0,03 ns	0,06 ns
Tratamento	4	6,31 **	233,87**	0,76 **	3,20 **
Erro	12	0,24	8,30	0,04	0,07
Total	19				

ns Não significativo

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 4. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DA ÁREA FOLIAR NA PORCENTAGEM DE ESTACAS ENRAIZADAS, BROTADAS E MORTAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.1, TABELA 1).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio					
		Enraizamento		Brotação		Mortalidade	
		<i>M.</i>	<i>M.</i>	<i>M.</i>	<i>M.</i>	<i>M.</i>	<i>M.</i>
		<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>	<i>glomerata</i>	<i>laevigata</i>
Bloco	3	214,58 ns	7,91 ns	885,00 **	14,58 ns	57,91 ns	14,13 ns
Tratamento	4	4170,00**	196,87**	342,50 ns	1151,87**	3217,50**	86,25**
Erro	12	66,66	19,37	130,83	188,54	160,00	9,21
Total	19						

ns Não significativo

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.



ANEXO 5. RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO ENRAIZAMENTO E BROTAÇÃO DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 3, 6 E 7).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Enraizamento		Brotação	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Repetição	3	48,26 ns	151,04 ns	95,83 ns	47,22 ns
Sistema de irrigação (A)	1	234,37 ns	51,04 ns	37,50 ns	3266,61 **
Substrato (B)	2	2004,16 *	1801,04 **	654,16 ns	387,50 **
Interação A x B	2	912,50 ns	94,79 ns	537,50 ns	729,16 **
Erro	15	329,09	168,54	209,16	50,55,6
Total	23				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 6. RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MORTALIDADE E RETENÇÃO FOLIAR DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 4 E 7).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Mortalidade		Retenção foliar	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Repetição	3	25,00 ns	48,26 ns	5,12 ns	27,34 ns
Sistema de irrigação (A)	1	150,00 *	376,04 **	162,76 **	1169,01 **
Substrato (B)	2	2194,79 **	1216,66 **	34,63 ns	934,63 **
Interação A x B	2	1596,87 **	254,16 **	97,13 **	594,01 *
Erro	15	18,33	25,76	9,70	90,67
Total	23				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 7. RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NO COMPRIMENTO DE BROTAÇÕES E VOLUME DE RAÍZES DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 5 E 8).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Comprimento de brotações		Volume de raízes	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Repetição	3	23,17 ns	0,10 ns	36,89 ns	0,37 ns
Sistema de irrigação (A)	1	29,27 ns	47,22 **	858,01 *	809,68 **
Substrato (B)	2	0,41 ns	5,06 **	1248,13 **	880,07 **
Interação A x B	2	0,75 ns	4,30 **	505,07 ns	75,98 **
Erro	15	11,40	0,28	179,80	4,34
Total	23				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 8. RESUMO DA ANÁLISE FATORIAL DO SUBSTRATO X SISTEMA DE IRRIGAÇÃO NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE ESTACAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.2, TABELAS 5 E 8).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Massa fresca		Massa seca	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Repetição	3	19,61 ns	5,94 ns	0,09 ns	1,52 ns
Sistema de irrigação (A)	1	876,22 *	1205,78 **	12,03 *	17,54 **
Substrato (B)	2	1174,73 **	1037,73 **	9,04 *	10,55 **
Interação A x B	2	419,96 ns	52,42 *	6,01 ns	1,93 *
Erro	15	140,98	9,15	2,18	0,49
Total	23				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 9. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO NA RETENÇÃO FOLIAR E PORCENTAGEM DE ESTACAS ENRAIZADAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 9).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Enraizamento		Brotação	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	3,33 ns	1,66 ns	342,40**	270,00**
Tratamento	4	4,37 ns	29,37 ns	47,30 ns	51,25 ns
Erro	12	4,37	44,37	23,56	26,25
Total	19				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 10. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO NA PORCENTAGEM DE ESTACAS BROTADAS E MORTAS DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 15)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Mortalidade		Retenção foliar	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	0,58 ns	1,38 **	11,14 *	38,64 ns
Tratamento	4	0,05 ns	3,12 ns	2,65 ns	5,00 ns
Erro	12	1,25	6,59	2,03	17,29
Total	19				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 11. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NO COMPRIMENTO DA BROTAÇÃO E VOLUME DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 10)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Comprimento da brotação		Volume de raízes	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	6,43 **	1,18 ns	554,58 **	4,86 **
Tratamento	4	0,09 ns	0,38 ns	38,59 ns	1,20 ns
Erro	12	0,54	0,35	28,80	0,36
Total	19				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 12. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE IMERSÃO EM ÁGUA NA MASSA FRESCA E SECA DE RAÍZES DE *Mikania glomerata* E *Mikania laevigata* (EXPERIMENTO 3.4.3, TABELA 10)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio			
		Massa fresca de raízes		Massa seca de raízes	
		<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>	<i>M. glomerata</i>	<i>M. laevigata</i>
Bloco	3	582,33 **	9,74 ns	0,37 ns	0,50 ns
Tratamento	4	39,02 ns	8,04 ns	0,19 ns	0,20 ns
Erro	12	21,99	6,59	0,20	0,03
Total	19				

ns Não significativo

\* Significância estatística em nível de 5% de probabilidade de erro.

\*\* Significância estatística em nível de 1% de probabilidade de erro.

ANEXO 13. DADOS DIÁRIOS DE TEMPERATURA – 1999 (FONTE: SIMEPAR – SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ, ESTAÇÃO 25254905, PINHAIS)

Dados diários - 1999												
Dia	Temperatura máxima (°C)				Temperatura mínima (°C)				Temperatura média (°C)			
	Jun	Jul	Ago	Set	Jun	Jul	Ago	Set	Jun	Jul	Ago	Set
1	17.8	15.9	18.3	31.1	-0.1	4.5	6.4	17.2	8.4	9.5	10.4	23.0
2	17.2	14.8	21.8	31.2	2.3	9.8	6.7	13.4	9.1	11.6	12.0	22.0
3	20.6	22.2	21.2	29.5	8.0	12.3	2.7	11.5	13.3	15.2	11.0	19.6
4	12.8	15.0	19.1	29.2	9.8	7.9	4.3	9.6	11.2	11.2	10.7	17.8
5	11.1	8.5	21.7	25.4	7.9	7.3	8.8	12.7	9.4	7.8	13.4	17.0
6	10.4	12.7	23.7	27.2	6.4	8.1	10.2	14.3	8.6	10.3	15.9	19.2
7	11.8	15.3	22.9	30.3	5.2	10.0	11.1	16.7	8.7	12.9	16.8	23.0
8	16.9	17.9	18.1	31.2	10.2	7.8	5.4	14.6	12.5	12.1	10.0	23.0
9	18.8	16.9	20.1	14.9	12.9	7.9	7.4	11.0	15.3	11.4	11.6	13.6
10	19.4	16.9	25.8	11.4	8.5	10.2	6.1	8.5	15.4	12.2	15.8	9.7
11	19.4	16.0	26.9	11.6	2.0	10.8	8.7	9.2	10.2	12.1	17.4	10.2
12	18.9	17.4	27.0	17.1	6.8	9.5	8.7	10.7	11.5	12.1	17.9	13.2
13	14.9	19.0	23.9	20.1	9.4	4.9	11.3	13.4	11.4	11.2	15.8	15.6
14	11.2	21.9	11.3	17.7	8.8	6.5	2.0	13.7	10.1	13.5	7.0	14.8
15	15.2	22.3	9.0	21.1	9.7	8.5	-2.2	9.2	11.6	14.9	3.2	15.4
16	17.5	23.6	9.7	19.7	9.2	10.6	3.2	7.0	12.3	16.6	6.3	12.0
17	19.5	24.3	11.1	20.4	5.1	10.7	7.7	4.9	12.5	15.5	8.8	12.0
18	14.3	13.3	16.4	21.2	11.3	9.7	7.6	10.3	12.5	11.2	11.1	14.5
19	13.2	19.7	17.9	22.7	10.4	10.9	8.0	12.1	11.6	13.9	12.6	15.4
20	13.6	23.4	19.8	20.0	10.4	11.9	9.9	9.9	11.6	17.1	14.1	14.2
21	15.5	21.0	24.3	25.1	10.5	9.5	10.5	9.8	12.7	14.8	16.3	16.2
22	20.0	14.0	26.3	14.1	9.5	8.5	10.4	10.2	13.6	10.6	18.6	12.3
23	20.0	15.2	22.3	13.9	9.0	9.7	11.6	8.1	13.2	11.5	15.1	10.1
24	22.5	22.6	19.4	14.9	6.1	10.1	9.6	6.9	13.9	14.5	14.1	9.9
25	21.1	24.6	24.6	18.9	11.8	8.7	11.2	8.3	15.9	15.8	16.5	11.9
26	19.7	24.7	26.6	24.9	12.9	8.4	10.8	9.3	14.7	16.6	18.5	15.9
27	23.0	25.5	25.7	18.7	11.0	13.5	11.5	9.9	15.5	17.3	15.6	13.9
28	23.7	14.2	21.6	25.1	9.1	11.2	12.0	10.6	16.7	12.5	15.2	17.1
29	19.1	19.5	27.9	19.6	11.7	11.8	9.2	12.1	16.3	14.3	17.6	15.4
30	17.2	24.9	28.1	17.7	5.5	9.8	12.2	10.8	9.8	16.5	18.2	13.1
31		12.6	29.6			5.0	13.0			8.7	21.4	
Mês	Jun	Jul	Ago	Set	Jun	Jul	Ago	Set	Jun	Jul	Ago	Set
Mín	10.4	8.5	9.0	11.4	-0.1	4.5	-2.2	4.9	8.4	7.8	3.2	9.7
Máx	23.7	25.5	29.6	31.2	12.9	13.5	13.0	17.2	16.7	17.3	21.4	23.0
Méd	17.2	18.6	21.4	21.5	8.4	9.2	8.3	10.9	12.3	13.1	13.8	15.4

ANEXO 14. DADOS DIÁRIOS DE TEMPERATURA – 2000 (FONTE: SIMEPAR – SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ, ESTAÇÃO 25254905, PINHAIS)

Dados diários – 2000									
	Temperatura máxima (°C)			Temperatura mínima (°C)			Temperatura média (°C)		
Dia	Jun	Jul	Ago	Jun	Jul	Ago	Jun	Jul	Ago
1	16.2	18.5	18.7	8.3	10.9	10.0	10.5	13.4	13.1
2	17.2	24.9	23.8	8.1	12.1	6.9	11.5	17.9	15.8
3	17.3	13.8	15.1	10.5	9.3	10.2	13.0	11.0	13.1
4	15.5	15.9	11.3	12.3	8.4	2.8	13.6	10.9	7.7
5	23.0	20.8	14.3	12.7	9.5	1.0	15.8	12.9	7.2
6	25.8	22.2	18.4	9.7	9.9	4.8	17.2	14.2	10.4
7	25.2	22.9	24.2	10.5	11.2	5.7	17.5	16.0	15.2
8	24.4	23.3	25.9	10.1	11.2	8.6	17.6	17.4	17.1
9	22.0	24.9	27.1	14.4	12.9	12.5	16.9	18.6	18.1
10	20.9	22.1	15.1	12.5	14.6	8.6	15.7	18.0	10.2
11	24.4	19.8	14.4	9.2	11.2	4.8	16.0	17.1	8.3
12	22.9	11.6	11.6	11.8	2.5	3.1	16.3	7.8	6.3
13	20.7	13.3	15.1	11.6	-2.4	1.8	15.1	4.4	7.9
14	25.2	13.9	22.2	7.6	-2.2	7.4	15.6	4.8	12.7
15	25.3	12.2	23.3	13.3	4.3	10.4	17.1	8.0	13.8
16	25.5	9.7	12.6	11.9	2.0	7.9	17.8	6.2	10.4
17	19.4	13.8	18.2	12.7	-3.5	8.1	15.4	3.8	11.9
18	15.0	15.2	17.7	13.5	-1.3	9.4	14.2	6.6	13.2
19	21.3	13.5	21.8	13.2	4.8	3.5	16.4	8.5	12.0
20	15.4	15.3	26.2	10.1	-2.1	7.6	12.5	6.0	15.0
21	16.0	18.9	27.4	4.9	-1.0	6.8	10.5	9.1	17.5
22	20.0	14.5	27.6	1.8	8.3	10.2	9.7	12.0	19.1
23	21.9	13.5	27.6	2.2	3.2	10.9	11.5	9.2	19.5
24	24.0	14.1	28.3	8.2	-1.2	11.6	15.9	5.2	18.8
25	26.0	17.5	29.6	17.4	-0.9	13.6	20.8	7.2	21.2
26	22.6	16.9	27.3	14.0	1.2	14.5	16.8	8.3	19.4
27	22.8	17.3	15.7	13.0	4.0	13.0	15.7	8.7	13.9
28	24.1	22.2	14.8	13.0	6.2	10.9	16.8	11.5	12.8
29	22.3	24.6	20.2	12.6	7.3	9.1	17.9	12.7	12.9
30	21.0	21.9	21.4	10.0	7.7	6.3	14.6	13.0	13.2
31		14.9	17.6		7.5	9.6		11.6	14.1